A. Ascoli

Grundriß der Serologie

Dritte Auflage.

Verlag · Josef Šafář · Wien



Grundriß der Serologie

Von

Dr. Alberto Ascoli

ordentlichem Professor der Veterinärhygiene an der königl. Universität in Modena, Privatdozent für physiologische Chemie an der königl. Universität Pavia

Deutsche Ausgabe von

Dr. Rudolf Stephan Hoffmann

Primararzt in Wien

Dritte verbesserte und vermehrte Auflage

Mit 29 Figuren und zahlreichen Tabellen im Texte und 8 farbigen Tafeln

Wien und Leipzig

Verlag von Josef Šafář

1921

Vorwort zur dritten Auflage.

Der „Grundriß der Serologie“, entstanden aus einem Vortragszyklus für Ärzte und Tierärzte, den ich im Jahre 1911 in Triest und Pola gehalten habe, ist in seiner zweiten deutschen Auflage nach Ausbruch des Weltkrieges erschienen.

Die Arbeiten zur vorliegenden dritten Auflage setzten sofort nach Wiederbeginn der Friedenstätigkeit ein, wobei die Fortschritte und Erfahrungen aus den Kriegsjahren, die zur allgemeinen Anerkennung der Immunitätslehre und ihrer Methoden geführt haben, verdiente Berücksichtigung fanden.

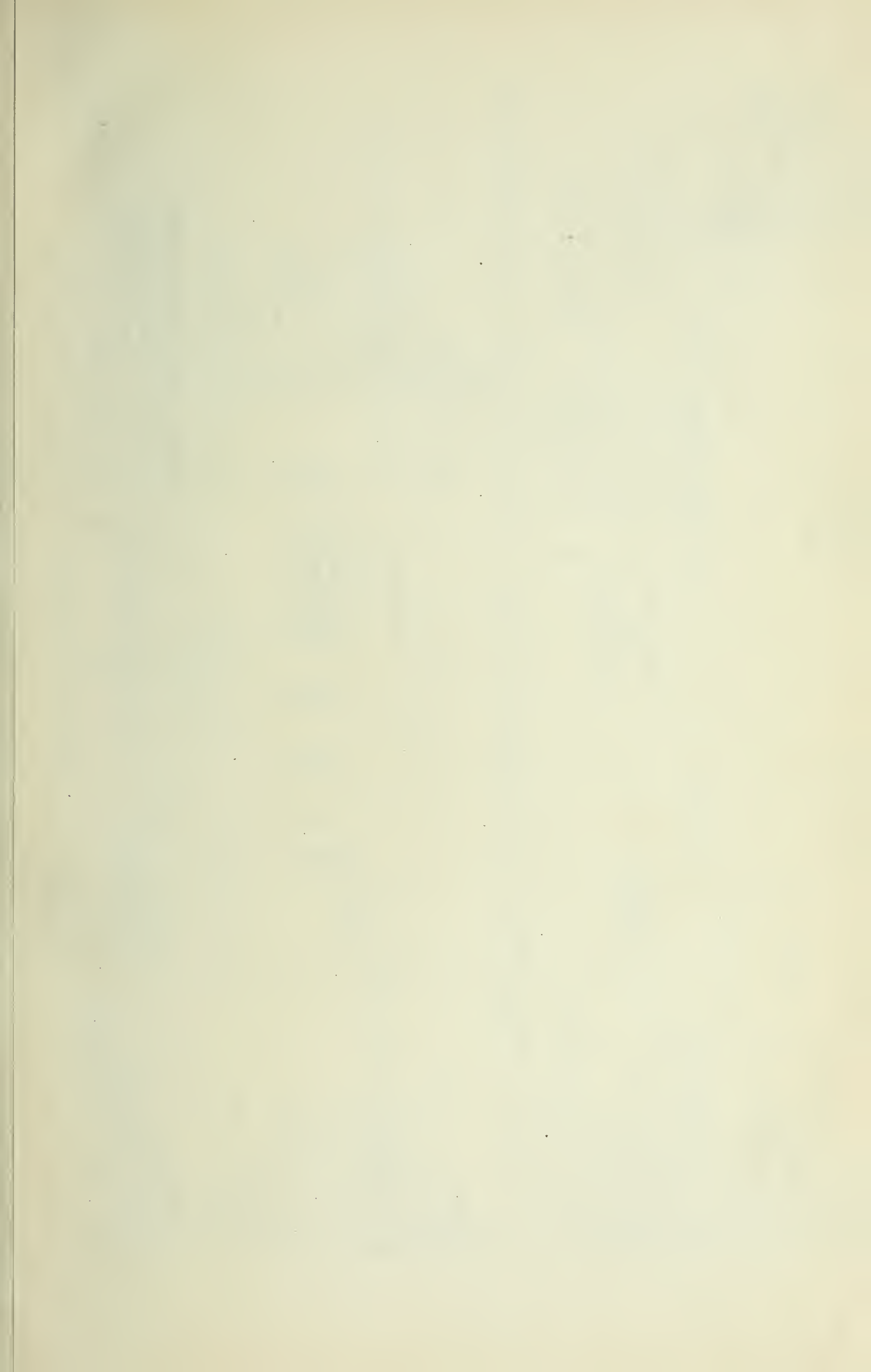
Neben der theoretischen Darstellung nimmt nunmehr auch die Schilderung der Technik den gebührenden Platz ein. Dadurch wird das theoretische Verständnis für sie gefördert und überdies dem Studierenden der Medizin und Tierarzneikunde der Weg gewiesen, sich mit den wichtigsten serologischen Reaktionen auch praktisch vertraut zu machen.

Möge somit der „Grundriß“ neue Freunde unter Ärzten, Tierärzten und Studierenden finden und die dritte Auflage ebenso günstig beurteilt werden wie die früheren!

Mailand, Ostern 1921.

Alberto Ascoli.





Kongestin Krepitin Serum Tuberkulin Mallein Luetin	Überempfindlichkeit oder **Anaphylaxie** ↑ spezifische	Arthussches Phänomen Smithsches Phänomen Serumkrankheit Ophthalmo- und Kutanreaktion Malleinreaktion Kutanreaktion bei Syphilis

Eiweißzerfall ← nicht spezifisch → Anaphylatoxin—Fiebergift.

ALLERGIE

Homologe und heterologe Vakzinen Proteine (Pferde- oder Milchserum) Peptone Kolloidale Metalle	← nicht spezifisch = dritte Immunität	Allgemein gegen Infektionen neutralisierende Stoffe Kolloidtherapie Stomotherapie

Immunität

← spezifisch →

ANTIGENE			**ANTIKÖRPER**		
Tetanus Diphtheritis Dysenterie Rauschbrand?	bakterielle	***Toxine***	**Antitoxine**	Serum gegen	Tetanus Diphtheritis Dysenterie Rauschbrand?
Rizin Abrin Krotin	pflanzliche				Rizin Abrin Krotin
Schlangengifte	tierische				Schlangengift
Cholera Typhus Koli	abgetötete (Endotoxine)	***Bakterien***	**Bakterio-** **Lysine** **Agglutinine** **Präzipitine**	Serum gegen „ „ „ „ „ „	Cholera Typhus Koli Milzbrand
Milzbrand Staphylo- } kokken Meningo- } kokken	lebende		**Antiblastine** **Opsonine**	„ „ „ „	Staphylokokken Meningokokken
Streptokokken Schweinerotlauf Septikämie			?	„ „ „ „ „ „	Streptokokken Schweinerotlauf Septikämie
Rote Blutkörperchen Weiße Blutkörperchen Spermatozoen Flimmerepithelien Leber, Nieren Plazenta Nervensubstanz		***Zellen***	**Zytolysine und Zytotoxine**		Hämolysine Leukotoxine Spermotoxine Trichotoxine Hepato-Nephrolysine Synzitiolysine Neurotoxine
Plazentargewebe		***Plasmafremde Substrate***	***Abwehrfermente***		im Schwangernserum
Blut Fleisch Mehl Milch (Kasein) Serumalbumin Serumglobulin Hühnereiweiß Echinokokkus Meningokokkus Milzbrand Schweinerotlauf Syphilis		***Proteine***	**Präzipitine und komplementbindende Substanzen**	für „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	Blut Fleisch Mehl Milch (Kasein) Serumalbumin Serumglobulin Hühnereiweiß Echinokokkus Meningokokkus Milzbrand Schweinerotlauf Syphilis
Typhus Tuberkulose Maligne Tumoren Maul- und Klauenseuche		***Lipoide?***	**Meiostagmine**	Serum von „ „ „ „ „	Typhuskranken Tuberkulösen Karzinomatösen bei Maul- und Klauenseuche

Erstes Kapitel.

Entwicklung der Immunitätslehre.

Mithridatismus. — Jennersche Impfung (Jenner 1798). — Pasteursche Vakzination (Pasteur 1880). — Antitoxische Sera (Behring, Roux, Ehrlich 1890—1895). — Antiinfektiöse Sera (Metschnikoff 1892). — Alexine (Buchner 1890—1892). — Bakteriolyse (Pfeiffer 1895). — Sensibilisatoren (Bordet 1895). — Agglutinine (Gruber und Widal 1896). — Bakterielle Präzipitine (Kraus 1897). — Zytotoxine (Belfanti und Carbone 1898). — Hämolysine (Bordet 1898, Ehrlich und Morgenroth 1899—1901). — Angewandte biologische Reaktionen (Uhlenhuth 1900). — Komplementbindungsreaktion (Bordet und Gengou 1902). — Anaphylaxie (Richet 1902). — Serodiagnose der Syphilis (Wassermann 1906). — Kutanreaktion (v. Pirquet 1907). — Ophthalmoreaktion (Wolff-Eisner und Calmette 1907). — Meiostagminreaktion (M. Ascoli 1909). — Thermopräzipitation (A. Ascoli 1911). — Serodiagnose der Schwangerschaft (Abderhalden 1912). — Dritte Immunität (Ishikawa 1914, Centanni 1894 und 1919). — Anaphylatoxin (Friedberger 1910—1915). — Spezifische Prophylaxe im Weltkriege.

Behring.

Die Serologie nimmt ihren Ausgang von der grundlegenden Entdeckung Behrings (1890—1892): daß es möglich ist, Meerschweinchen und Kaninchen mittels besonderer Verfahren einen hohen Grad von Immunität gegen Tetanus und Diphtherie zu verleihen und diese Immunität auf andere Tiere zu übertragen, und zwar durch Transfusion des Blutes resp. des Blutserums schon immunisierter Tiere.

Wir werden in der Folge auf die Tragweite dieser von Behring inaugurierten antitoxischen Immunität zurückkommen, möchten aber zuerst auf die historische Bedeutung dieser wunderbaren Entdeckung eingehen, durch die das pharmazeutische Rüstzeug eine wesentliche Bereicherung erfuhr.

der von Virchow sorgfältig ausgebauten Zellularpathologie jedoch ein harter Schlag versetzt wurde. Behrings Entdekkung war vielleicht vom theoretischen Standpunkte aus ebenso fruchtbringend wie vom praktischen. Sie bot die feste Grundlage für die Immunitätslehre, von der man früher bloß die vitalen Erscheinungen kannte, die sich darin zusammenfassen ließen, daß bestimmte Organismen gewissen Krankheitserregern gegenüber einen größeren Widerstand bieten als andere.

Mithridatismus.

Die Kenntnis einiger hieher gehöriger Tatsachen geht übrigens auf die ältesten Zeiten zurück. Denn schon Mithridates machte sich die diesbezüglichen Erfahrungen zunutze, um sich gegen gewisse Gifte zu schützen, indem er sie täglich in kleinen Mengen einnahm. In ähnlicher Weise schützen sich Schlangenjäger und manche wilde Stämme gegen Schlangenbisse, indem sie sich freiwillig und systematisch Schlangengift einverleiben. Auch die Unempfindlichkeit, die einzelne Individuen im Verlaufe gewisser Epidemien zeigen, während andere angesteckt werden, die Widerstandsfähigkeit mancher Rassen gegen Krankheiten, die die Geißel anderer sind, werden schon seit jeher als Immunitätserscheinungen gegenüber pathogenen Einflüssen ausgelegt. Das klassische Beispiel für eine rationelle und systematische, wenn auch rein empirische Prophylaxe gegen Ansteckungen bildet die von Jenner gegen Ende des 18. Jahrhunderts eingeführte Blatternimpfung. Aus den von Jenner im Jahre 1798 veröffentlichten Untersuchungen geht deutlich hervor, daß der Eiter der tierischen Blatternpustel (Cow-pox), die Vakzine, auf den Menschen übertragen, diesen gegen die Ansteckung mit menschlichen Blattern schützt, und daß sie, von Mensch zu Mensch übertragen, ihre immunisierende Wirkung beibehält. Daher wurde diese Impfmethode sehr bald weit und breit angewendet und heute ist sie in fast allen Kulturländern obligatorisch, nachdem die humanisierte Lymphe durch die Kuhpockenlymphe ersetzt wurde, wie dies zuerst Negri in Neapel angab.

Jenner.

Obwohl Jenners Entdeckung einen für die damalige Zeit wunderbaren Scharfsinn offenbarte und ihn als einen Vorläufer der Pasteurschen Impfungen erscheinen läßt, konnte sie doch infolge der mangelhaften Kenntnisse, die man damals über die Natur der Krankheiten besaß, nicht auf andere Krankheiten übertragen werden. Erst ein Jahrhundert später, als durch die Bakteriologie die Ätiologie der Infektionskrank-

heiten ergründet worden war, gelang es Pasteur, eine rationelle Erklärung des inneren Mechanismus der Vakzinationsvorgänge zu geben, wonach Jenners Schutzimpfung das erste Beispiel einer neuen Bekämpfungsmethode der Infektionskrankheiten darstellt.

Pasteur.

Diese Methode besteht in der künstlichen Erzeugung der betreffenden Krankheit in einer leichten Form dadurch, daß man ihre abgeschwächten Erreger einimpft. Es ist das große und unbestrittene Verdienst Pasteurs, nach der noch rein empirischen Entdeckung der Impfung gegen Rabies, auf experimentellem Wege gezeigt zu haben, und zwar zuerst bei Hühnercholera und dann bei anderen infektiösen Krankheiten, wie Rotlauf und Milzbrand, daß die Einimpfung von Keimen, die derart abgeschwächt sind, daß sie nur mehr eine leichte Reaktion hervorrufen, den Tieren eine höhere Resistenz verleiht, so daß sie gegen eine frische Infektion mit kräftigeren Keimen, die für nicht geimpfte Tiere tödlich ist, unempfindlich bleiben. Diese Entdeckung ermöglichte es, die theoretischen Ergebnisse der von ihm begründeten Bakteriologie praktisch zu verwerten; sie lieferte wirksame neue Waffen im Kampfe gegen die Ansteckung und bildete den Grundpfeiler unserer Kenntnisse in der Immunitätslehre.

Die Infektion besteht nämlich nach den auf diesen Entdeckungen fußenden Anschauungen nicht in einem einfachen Eindringen pathogener Keime in den Organismus, sondern es gehört dazu eine geeignete Verfassung des Organismus, damit eine leichte und übermächtige Entwicklung derselben stattfinden könne. Dieser Zustand besteht auch bei Individuen derselben Gattung nicht immer und überall in gleichem Maße, so daß verschiedene Ursachen (Alter, Puerperium, Ernährung, thermische und psychische Einflüsse) die Ansteckung begünstigen oder hemmen können. Zu den Umständen, die am meisten geeignet sind, den Organismus in seiner Abwehr zu unterstützen oder refraktär zu machen, gehört in vielen Fällen das Vorausgehen einer analogen Infektion. So erklärt sich eine ganze Reihe von klinischen und epidemiologischen Erscheinungen, und so ist dem Verständnisse und der Praxis der aktiven Immunität mittels Infektion durch abgeschwächte Keime der Weg gebahnt. Die Pasteurschen Impfungen haben sich als ein ausgezeichnetes Mittel erwiesen, um die Widerstandsfähigkeit des Organismus gegen verschiedene Krankheiten künstlich zu steigern; in der

Praxis bilden sie die Grundlage der sogenannten Impfungsverfahren, welche heute nicht bloß zur Bekämpfung von Tierseuchen (Milzbrand, Rotlauf und Tollwut), sondern auch zur Prophylaxe gegen Typhus und Cholera in größtem Umfang verwendet werden. Die aktive Immunität nach der Pasteurschen Impfungsmethode hat einen spezifischen Charakter, sie tritt nur jenem Kontagium gegenüber zutage, das in abgeschwächter Form zur Immunisierung verwendet wurde. Welche kolossale Bedeutung dieser Spezifität bei den Erfolgen und Mißerfolgen der Impfungsprophylaxe zukommt, hat die Feuerprobe des Weltkrieges gezeigt; in Fragen der Hygiene unterscheidet er sich von allen vorangegangenen Kriegen gerade durch die Vereinigung allgemeiner hygienischer mit speziellen prophylaktischen Maßnahmen, die sich nicht mehr nur auf Blattern, sondern auch auf die übrigen Geißeln des Krieges: Tetanus, Typhus, Cholera usw. erstreckten.

Welcher Art ist nun der Vorgang, der die größere Widerstandsfähigkeit gegen eine Krankheit infolge vorausgegangener Infektionen erzeugt? Pasteur nahm an, daß er in einer Erschöpfung der Nährstoffe bestehe, die zur Auskeimung und Entwicklung der Krankheitserreger notwendig und in den befallenen Organismen nur in bestimmten Mengen vorhanden seien.

Aber neue Untersuchungen und neue Entdeckungen riefen eine Umwälzung dieser Anschauung hervor und stellten das Verständnis der Immunität bei einer großen Zahl bakterieller Erkrankungen auf eine ganz andere Basis.

Die Versuche mit Bakteriengiften, auf die man schon seit Beginn der bakteriologischen Ära die Symptome der Diphtherie- und Tetanusinfektion zurückzuführen bestrebt war, hatten deutlich gezeigt, daß der Krankheitsverlauf weniger von den Bazillen selbst abhängt als von den toxischen Substanzen, die in ihren Stoffwechselprodukten enthalten und auch in den Bouillonkulturen nachweisbar sind.

Behring und Roux versuchten daher eine Immunität gegen Diphtherieinfektion auf die Weise zu erzeugen, daß sie das Tier gegen das Gift anstatt gegen den Bazillus selbst unempfindlich machten; dies gelang ihnen dadurch, daß sie verändertes, abgeschwächtes Gift einspritzten, ähnlich wie man es bei den Impfungen mit lebenden Keimen gemacht hatte. Die von Pasteur vertretene Anschauung einer Erschöpfung der Nähr-

stoffe mußte man demnach fallen lassen. Aber Behring und Roux erkannten bald die grundlegende Wichtigkeit dieser Tatsache; sie bauten sie aus und legten damit das Fundament der modernen Immunitätstheorie.

Die Widerstandsfähigkeit gegen diese Gifte erwies sich nämlich als von komplizierten Lebensprozessen unabhängig. Sie ist vielmehr an das Serum der immunisierten Tiere gebunden; wenn man eine genügende Menge davon mit tödlichen Dosen des Giftes mischt, verliert letzteres seine Toxizität; im Tierkörper hebt die Injektion dieses Serums sowohl die deletären Wirkungen des Toxins, als auch die der entsprechenden Infektion auf.

Antitoxine.

Im Blutserum immunisierter Tiere findet man spezifische Stoffe, die imstande sind, die Bakteriengifte zu neutralisieren. Diese Antitoxine entfalten ihre Wirkung nicht nur solange sie in dem mit Giften vorbehandelten Tiere zirkulieren, vielmehr auch nach ihrer Übertragung auf andere Tiere, d. h. nach einfacher Injektion des Blutserums immunisierter Tiere. Dieser Beobachtung zufolge ist der Immunisierungsvorgang durch die Erzeugung von Antitoxinen von der sogenannten Giftgewöhnung scharf unterschieden: letztere ist die überraschende Widerstandsfähigkeit, die der Organismus gegenüber organischen und anorganischen Giften (Alkohol, Alkaloide, Arsenik) infolge graduell ansteigender Darreichung dieser selben Gifte erhalten kann; eine Gewöhnung, die z. B. für das Morphium auf eine Steigerung der entgiftenden Fähigkeit der Leber zurückgeführt worden ist.

Das Vorhandensein von Antitoxin im Blut verleiht der Entdeckung Behrings eine große praktische Bedeutung, weil wir mit Hilfe der Serotherapie die schon im Gange befindliche Infektion bekämpfen und heilen können, während die Pasteurschen Impfungen nur ein prophylaktisches Hilfsmittel zur Verhütung der Infektion darstellten, bestimmt, dem Auftreten des infektiösen Prozesses vorzubeugen.

Das Echo der wunderbaren Erfolge, die mit dem Diphtherieserum gezeitigt wurden, verbreitete sich über die ganze zivilisierte Welt und gab den Anlaß zur Gründung von serotherapeutischen Instituten in verschiedenen Ländern, so wie die Pasteursche Kur gegen Hundswut die Wiege des Pasteurschen Institutes gewesen war. Die Notwendigkeit, über Diphtherieheilserum verfügen zu können, dessen Erzeugung damals den Bedarf nicht deckte, ließ in verschiedenen Ländern aus

Staats-, Gemeinde- oder Privatmitteln serotherapeutische Institute erstehen, die sich in erster Linie der Produktion von Serum widmen und überdies ein Mittelpunkt serotherapeutischer Forschung werden sollten, durch die man damals glänzende Resultate bei allen Infektionskrankheiten zu erzielen hoffte.

Aktive und passive Immunität.

Die Behringsche Entdeckung bedeutete nicht nur in der Praxis einen wesentlichen Fortschritt im Kampfe gegen die Infektionskrankheiten, sondern auch in der Theorie, denn sie führte zu dem Begriffe der aktiven und passiven Immunität. Die aktive Immunität gegen Diphtherie und Tetanus entwickelt sich im vorbehandelten Organismus als Reaktion auf das eingespritzte Gift. Und in analoger Weise kommt, aller Wahrscheinlichkeit nach, auch die erhöhte Widerstandsfähigkeit infolge der Pasteurschen Impfungen zustande. Die bei der Serumtherapie durch Übertragung der antitoxischen Produkte von einem aktiv immunisierten auf einen gesunden oder schon von einer Infektion befallenen Organismus erzeugte Resistenzvermehrung ist hingegen als eine passive Immunität aufzufassen und zu bezeichnen, weil der Organismus an ihrer Erzeugung nicht teilnimmt, sondern sich dabei passiv verhält und einfach als Träger für die antitoxischen Prinzipien dient. Natürlich bürgerte sich vornehmlich letztere Methode in der medizinischen Praxis ein, schon wegen der Schnelligkeit, mit der sie infolge der Menge von Antitoxinen wirkt, die damit eingeführt werden können. Hingegen wird die aktive Immunisierung mit Giften, die durch methodische Behandlung von Tieren mit steigenden Giftdosen eine künstliche Hyperimmunisierung hervorzurufen bestrebt ist, so daß die Antitoxine in großer Menge in den Kreislaufstrom ergossen werden, in bedeutendem Umfang in den serotherapeutischen Instituten geübt; diese können so dem Arzte hochaktive Sera liefern, welche dazu bestimmt sind, eine passive Immunität gegen Gifte zu erzeugen. Diese Sera dienen zwar auch bei Gesunden zur Verhütung der Erkrankung, hauptsächlich aber finden sie bei Kranken zu Heilzwecken Verwendung, um die schon im Kreislauf befindlichen Toxine zu binden.

Wirkungsmechanismus der Antitoxine.

Die Einwirkung der antitoxischen Sera auf das Gift ist eine direkte; es genügt, die beiden Produkte miteinander zu mischen, worauf diese Mischung, dem Versuchstiere injiziert, keinerlei toxische Wirkung mehr ausübt. Zwar nahm schon Behring eine direkte Neutralisation des Toxins durch das

Antitoxin an, eine Annahme, die von der Tatsache bestätigt wurde, daß die Mischungen von Toxin und Antitoxin für den Organismus unschädlich sind; trotzdem aber wurde diese natürliche und einfache Anschauungsweise nicht ohne weiteres angenommen. Da der lebendige Organismus zum Nachweis der Serumwirkung unentbehrlich war, war es besonders den Zellularisten unmöglich, sich den Zweifel aus dem Sinn zu schlagen, daß doch der Organismus sich irgendwie aktiv an dem Vorgang beteilige; statt ihn als einfachen Zuschauer gelten zu lassen, dessen Leben freilich in dem Kampfe zwischen Toxin und Antitoxin auf dem Spiele stand, griff man zur Hypothese, daß auch bei Injektion einer neutralen Mischung diese sich spalte und das Antitoxin den Organismus zur aktiven Teilnahme an der Zerstörung des Giftes anrege. Die Annahme einer indirekten Serumwirkung, welche unter Mitwirkung des passiv immunisierten Organismus zustande käme, mußte jedoch fallen gelassen werden, als Ehrlich die direkte Neutralisierung eines Giftes in vitro bewerkstelligte. Ehrlich hatte gleich nach der Behringschen Entdeckung nachgewiesen, daß es möglich ist, Tiere gegen Pflanzengifte, wie Rizin und Abrin zu immunisieren und Sera herzustellen, die imstande sind, diese Gifte zu neutralisieren. Das Rizin, eine toxische Substanz aus dem Rizinussamen und toxikologisch sowie chemisch den Bakteriengiften verwandt, übt außer seiner toxischen Wirkung auf Tiere, in vitro eine agglutinierende Wirkung auf die roten Blutkörperchen aus. Nun gelang es Ehrlich, zu zeigen, daß das Antirizinserum in gleicher Weise die Wirkung des Rizins sowohl in vitro als auch in vivo mit einem überraschenden Parallelismus neutralisiert, so daß es möglich war, daraus zu schließen, daß beide Prozesse ohne Mitwirkung des Organismus vor sich gehen. Bei den Versuchen in vitro blieb ja der Organismus außer Frage, bei denen in vivo konnte auf Grund der vergleichenden quantitativen Analyse der beiden Neutralisationsprozesse eine Beteiligung des Organismus gleichfalls ausgeschlossen werden. Es stand also fest, daß Toxin und Antitoxin direkt aufeinander wirken, und die Ausschließung eines jeden anderen störenden Elementes ermöglichte ein gründlicheres Studium der Frage, welches dazu führte, die Bekämpfung des Toxins durch das antitoxische Serum als einen chemischen Neutralisationsprozeß aufzufassen, der prinzipiell den Reaktionen zwischen Säuren und Basen gleichkommt.

Eine serotherapeutische Ära war also dank dem Tetanus- und Diphtherieheilserum eröffnet worden. Warum sollten nicht diese ersten so glücklich begonnenen Versuche einer ätiologischen Therapie dazu verlocken, die Immunisierungsmethoden zu erweitern und auf andere Infektionskrankheiten und andere Gifte auszudehnen?

Daß die von Ehrlich stammende Erzeugung von Antitoxinen (Antirizin, Antiabrin, Antikrotin) gegen Pflanzengifte (Rizin, Abrin, Krotin) theoretisch interessante und lehrreiche Ergebnisse zeitigte, ist schon oben angedeutet worden.

Aber auch gegen tierische Gifte, wie z. B. das Schlangengift, wurde nach derselben Immunisierungsmethode bei den Versuchstieren ein Serum gewonnen, das prinzipiell mit den erwähnten Eigenschaften der antitoxischen Sera gegen Bakteriengifte übereinstimmende Merkmale aufweist; ein solches Serum neutralisiert nämlich in vitro, wirkt präventiv und heilt eine tödliche Intoxikation, wenn die Erkrankung noch nicht zu weit vorgeschritten ist.

Das Serum gegen Schlangengifte wird tatsächlich in den Tropen, wo Schlangenbisse zu den alltäglichen Vorkommnissen gehören, mit gutem Erfolge beim Menschen angewendet. Die serotherapeutischen Bestrebungen wuchsen jedoch bald über die Grenzen der bloßen Immunisierung gegen Gifte bakterieller, pflanzlicher oder tierischer Natur hinaus; es war nur eine logische Folge der Entdeckungen von Pasteur und Behring, daß man versuchte, auch Sera gegen solche Infektionen herzustellen, bei denen das toxische Element nicht nachweisbar oder nicht vorherrschend ist, resp. das Krankheitsbild an die Wirkungen der Bazillenleiber selbst gebunden ist. Dank den Pasteurschen Arbeiten war zuerst die Möglichkeit geboten, mittels entsprechend abgeschwächter Bakterien eine aktive Immunisierung gegen lebendes Virus auch in solchen Fällen durchzuführen; durch Behring war dann die konstante Anwesenheit immunisierender Substanzen im Blute hyperimmunisierter Tiere nachgewiesen worden. Sollte man da nicht nach analogen antagonistischen Substanzen im Serum von Tieren fahnden, die statt mit Bakteriengiften mit den nach Pasteurs Angaben abgeschwächten Bakterien vorbehandelt worden waren?

Antiinfektiöse Sera.

Einige Versuche in dieser Richtung waren schon vor der Behringschen Entdeckung gemacht worden, und es war ge-

lungen, eine passive Immunität gegen Milzbrand mittels Serums resistenter Tiere und gegen Staphylokokkeninfektion und Rotlauf mittels des Blutes oder der Körpersäfte von aktiv immunisierten Tieren zu erzielen. Nach den Erfolgen des Diphtherieheilserums wurden die Versuche wieder aufgenommen und auf andere Bakterien ausgedehnt, wobei man bemüht war, Sera gegen die verschiedensten Infektionskrankheiten darzustellen. Man erhielt so Immunsera, die imstande waren, die injizierten Tiere gegen eine nachfolgende Einimpfung der Keime zu schützen. Diese Sera erwiesen sich jedoch als verschieden von den antitoxischen, weil sie wohl in vivo eine antiinfektiöse Wirkung entfalteten, in vitro aber keinerlei antitoxische Eigenschaften aufwiesen. Die nächstliegende Annahme, daß diese Sera nur wirken, insoferne sie bakterizide Substanzen, die Buchner Alexine nannte, enthalten, vermochte anfangs aus Mangel an unwiderleglichem Tatsachenmateriale nicht durchzudringen. Sie wurde lebhaft erörtert, aber nicht allgemein akzeptiert, hauptsächlich weil der Nachweis des direkten bakteriziden Vermögens nicht überzeugend gelang; entweder fehlte der Parallelismus zwischen der Serumwirkung in vitro und in vivo, oder, was noch schlimmer war, die Bakterizidie in vitro gelang gar nicht, wiewohl die antiinfektiöse Wirkung beim Tiere evident war. Deshalb stellte Metschnikoff diese antibakteriellen Sera den antitoxischen gegenüber und nahm für sie einen besonderen Wirkungsmechanismus an, der von seiner phagozytären Theorie hergeleitet war. Treu seiner Anschauung, daß die Verteidigung des Organismus gegen die Bakterien den Phagozyten anvertraut sei, die durch Einschließen und Aufzehren der Keime den Organismus vor der ihn bedrohenden Infektion retten sollten, stellte Metschnikoff die Hypothese auf, daß die antibakteriellen Sera nur wirken, insoweit sie die Phagozyten reizen; er nahm nämlich an, daß in den antibakteriellen Seris besondere Substanzen — Stimuline — vorhanden seien, die imstande sein sollten, die Phagozytose zu steigern. Diese Annahme räumte den zellulären Elementen bei der antibakteriellen Immunität wieder den Ehrenplatz ein, den ihnen die von Behring aufgestellte Humoraltheorie entrissen hatte, indem sie bei der antitoxischen Immunität das wirksame Agens in das Serum, somit in die Körpersäfte verlegte. Die französische Schule, die immer die Rolle der Phagozyten als der wichtigsten Abwehrvorrichtung

gegen die Bakterieninvasion hervorgehoben hatte, betrachtete im Einklange mit dieser Auffassung die zellulären Elemente als einzig maßgebenden Faktor im Kampfe gegen die Bakterien und stellte eben deswegen die antibakteriellen Sera den antitoxischen gegenüber, für deren Wirkung die deutsche Schule ausschließlich die Körpersäfte verantwortlich gemacht hatte.

Bakteriolyse.

Die von Metschnikoff zur Erklärung der Wirkung der antibakteriellen Sera aufgestellte Hypothese ließ sich jedoch nicht lange aufrechterhalten, weil neue Tatsachen die Annahme einer rein humoralen, direkt bazillenfeindlichen Wirkung der bakteriziden Sera ohne jede Mitwirkung der Zellen bestätigten. Durch einen einfachen technischen Kunstgriff, wie es die intraperitoneale Injektion einer Mischung von Choleraserum und Choleravibrionen war, gelang es nämlich Pfeiffer, die Auflösung der Vibrionen durch das antibakterielle Serum zu erreichen und damit die von Anfang an angenommene bakterizide Wirkung des Serums nachzuweisen.

Die von Pfeiffer erzielte Auflösung der Vibrionen oder Bakteriolyse, die unter dem Namen „Pfeiffersches Phänomen“ bekannt ist, beweist, daß die antiinfektiöse Wirkung der antibakteriellen Sera tatsächlich gewissen bakteriziden Stoffen zuzuschreiben ist, für deren Wirkung jedoch bei der Pfeifferschen Versuchsanordnung eine Aktivierung im tierischen Organismus erforderlich zu sein schien. Nach dem Pfeifferschen Versuche unterlag es keinem Zweifel mehr, daß die Schutzwirkung des Choleraserums in einer Auflösung der Keime bestand, zu deren Zustandekommen bloß Immunserum und Körpersäfte, aber keine zelligen Elemente erforderlich waren. Bald darauf stellte es sich aber heraus, daß die antibakteriellen Sera gegen Cholera und Typhus direkt auf die Bakterien wirken, ohne daß eine Mitwirkung des Organismus nötig wäre; es lag also eine mit dem Mechanismus der antitoxischen Sera prinzipiell übereinstimmende Wirkungsart vor. Es gelang nämlich Bordet in einem gründlichen Studium der antibakteriellen Sera, das Pfeiffersche Phänomen in vitro zu reproduzieren, indem er ganz frisches Serum anwendete, und er konnte auch nachweisen, daß altes sowie auch durch Erwärmung auf 56° inaktiviertes Serum seine bakterizide Wirkung in vitro von neuem entfaltet, sobald man frisches normales Serum hinzufügt. Die spezifische Bakterizidie stellte sonach das Resultat

des Zusammenwirkens zweier Komponenten dar: nämlich erstens eines spezifischen Antikörpers, der der Erwärmung auf 56° widersteht, und zweitens einer in jedem frischen Serum vorhandenen Substanz. Die Pfeifferschen Versuche fanden trotz ihrer Bedeutung für die Immunitätslehre keine Verwertung auf dem Gebiete der Therapie, hingegen eine diagnostische Anwendung, indem sie zur Differentialdiagnose der Choleravibrionen und der Typhusbazillen von morphologisch ähnlichen Keimen herangezogen werden konnten. Die Unterscheidung zwischen echten Choleravibrionen und choleraähnlichen Keimen, zwischen dem Eberthschen Bazillus und typhusähnlichen Bakterien läßt sich nämlich mit Hilfe der Bakteriolyse durchführen, weil das Pfeiffersche Phänomen spezifisch ist, d. h. unter bestimmten Versuchsbedingungen nur dann eintritt, wenn der dem Choleraserum zugesetzte Vibrio ein echter Choleravibrio, resp. das dem Typhusserum zugesetzte Bakterium ein wirklicher Typhusbazillus ist, aber ausbleibt, wenn der Keim von dem zur Herstellung des antibakteriellen Serums verwendeten verschieden ist. Die diagnostische Bedeutung der Immunitätsreaktionen wurde aber erst durch die Entdeckung einer anderen Eigenschaft der antibakteriellen Sera in ihrer ganzen Tragweite erkannt, nämlich der, in vitro ein Zusammenballen der Keime hervorzurufen.

Agglutination.

Bevor noch die Debatte über den diagnostischen Wert des Pfeifferschen Phänomens abgeschlossen war, machten Gruber und Durham (1896) auf den diagnostischen Wert der Agglutinationsprobe aufmerksam. Dieser Probe lag die Beobachtung zugrunde, daß beim Versetzen der Bouillonkultur eines bestimmten Bakteriums mit dem entsprechenden antibakteriellen Serum in vitro ein flockiger Niederschlag, bestehend aus den suspendierten Bakterien, entsteht, im hängenden Tropfen eine Immobilisierung und Zusammenballung der Keime zu kleinen Häufchen zu sehen ist. Die Agglutination bildet ein ebenso genaues diagnostisches Hilfsmittel, wie die Bakteriolyse, hat aber den Vorteil der größeren technischen Einfachheit. Gruber konnte feststellen, daß man mittels eines bekannten stark agglutinierenden Serums das betreffende Bakterium identifizieren, und umgekehrt, von einem bekannten Bakterium ausgehend, das korrespondierende Immunserum erkennen kann. Bald darnach führte Widal die Serodiagnose des Typhus ein, indem er zeigte,

Infektionsreaktion.

daß die agglutinierenden Stoffe nicht erst nach dem Ablauf der Krankheit als Ausdruck der Genesung auftreten, sondern schon in den ersten Stadien vorgefunden und zu diagnostischen Zwecken verwendet werden können. Die Agglutinine stellen entgegen der Annahme Grubers keine Heilfaktoren dar, sondern nur Reaktionsprodukte des Organismus, die zwar für seine Verteidigung von ganz untergeordneter Bedeutung, aber als diagnostisches Hilfsmittel sehr wertvoll sind.

Präzipitine.

Neben der Serotherapie entstand so die Serodiagnostik und erweiterte das Arbeitsfeld der serologischen Forschung. Obgleich bei den antibakteriellen Seris der erwartete serotherapeutische Erfolg ausblieb, war ihnen doch in der medizinischen Diagnostik eine Stellung gesichert, die derjenigen nicht nachsteht, welche die antitoxischen Sera vermöge ihrer Heilwirkung in der Therapie innehaben.

Neben den Agglutininen bilden sich im Verlaufe der Immunisierung gegen Bakterien noch andere Stoffe. Kraus zeigte in dem auf die Gruber- und Widalschen Entdeckungen folgenden Jahre (1897), daß einige antibakterielle Sera (Choleraserum, Koliserum) in Filtraten und Extrakten aus den entsprechenden Bakterienkulturen einen Niederschlag hervorrufen, und er nannte Präzipitine diejenigen Stoffe im Serum, die diese Reaktion hervorrufen, indem er sich an die schon bei den Bakteriolysinen und Agglutininen angewandte Nomenklatur hielt.

Die Reaktionsprodukte, mit denen der Organismus auf die Einführung der Bazillenleiber antwortet, erschienen demnach mannigfaltiger und die Immunitätserscheinungen komplizierter, als man voraussehen konnte.

Bis hieher handelte es sich aber immer um Reaktionen, die durch die Einführung von Mikroben oder deren Giften ausgelöst wurden. Wenn die Immunitätsforschungen den Rahmen einer Immunisierung im engeren Sinne des Wortes, wie ich sie in den vorangehenden Seiten zu schildern versuchte, nicht zu überschreiten verstanden hätten, so würden sie nur ein Kapitel der bakteriologischen Wissenschaft bilden, das zwar für Diagnostik und Therapie von hervorragendem Interesse, aber für die allgemeine Biologie vollständig bedeutungslos gewesen wäre. Bald stellte es sich jedoch heraus, daß der Organismus nicht bloß auf Bakterien und Gifte mit der Bildung von Immunkörpern reagiert; es gelang nämlich auch, gegen andere zellige Elemente

und gegen nicht toxische Stoffe immunitäre Reaktionsprodukte zu erzeugen, die unter der allgemeinen Bezeichnung Antikörper zusammengefaßt wurden.

Diesem Umstande ist es zu danken, daß die Serologie aus den engeren Schranken eines einfachen bakteriologischen Hilfsmittels treten durfte, und mit der experimentellen Pathologie und der Biochemie Fühlung nahm, womit ihr ein neues Arbeitsfeld im Studium der biologischen Reaktionen erschlossen wurde.

Zytolysine.

Die Anregung zu dieser neuen Richtung gab eine Entdeckung von Belfanti und Carbone (1898), daß das Serum von Pferden, die mit Kaninchenblut vorbehandelt worden waren, auf dieses Tier stark toxisch wirkte, während das normale Pferdeserum sich als ganz unschädlich erwies. Diese Beobachtung führte zu folgender unerwarteter Erkenntnis: so wie der Organismus auf die Injektion von Bakterienbestandteilen mit der Erzeugung von Substanzen antwortet, die die Wirkung der Bakterien paralysieren, ebenso reagiert er auch auf die Einführung von tierischem Blut oder Gewebe mit der Bildung von Körpern, die eine analoge Wirkung auf das Tier ausüben, von dem das Blut oder Gewebe gerade stammt. Bordet fand in der Tat auch bald die vollständige Übereinstimmung solcher Antikörper mit den bakteriolytischen heraus, indem er den Tierversuch durch den in der Eprouvette ersetzte. In den durch ihre toxische Wirkung gekennzeichneten Seris konnten den Bakteriolysinen entsprechende Hämolysine nachgewiesen werden, nämlich Substanzen, die imstande sind, in vitro die Lyse, die Auflösung der roten Blutkörperchen hervorzurufen. Noch mehr: ebenso wie bei der Bakteriolyse ließ sich auch bei der Hämolyse ein Zusammenwirken zweier Substanzen zeigen, eines spezifischen gegen Erwärmung auf 56° resistenten Antikörpers, der im hämolytischen Serum enthalten ist, und einer thermolabilen, in jedem frischen Serum enthaltenen Substanz. Die Hämolyse wurde bald wegen ihrer großen Einfachheit und Handlichkeit das klassische Beispiel, an dem die genialen Hypothesen der Theorien von Ehrlich und Bordet erörtert und diskutiert wurden. Die Immunität hatte somit aufgehört, eine rätselhafte Erscheinung spezieller Reaktionen des Organismus auf pathogene oder toxische Agentien zu sein, sondern bildete nunmehr bloß einen Spezialfall der allgemeinen Reaktionsfähigkeit des Organismus auf heterogene Elemente, die wegen ihrer Eigenschaft,

die Bildung von Antikörpern hervorzurufen, von Detrè Antigene benannt wurden.

Die verschiedenartigsten Zellen zeigten sich in der Folge antigener Wirkungen fähig. Die Reaktionsprodukte (Antikörper), die im Serum der mit zelligen Elementen oder Geweben immunisierten Tiere auftraten, wurden von Metschnikoff wegen ihrer toxischen Wirkung auf die Zellen selbst Zytotoxine genannt.

Außer gegen die roten Blutkörperchen wurden Zytotoxine oder Zytolysine auch gegen die weißen Blutkörperchen (Leukotoxine), gegen die Spermatozoen (Spermotoxine), gegen die Flimmerepithelien (Trichotoxine), die Leber (Hepatolysine), die Nieren (Nephrolysine), die Plazenta (Synzitiolysine), das Nervensystem (Neurotoxine) hergestellt. Sie entfalten im Organismus eine toxische Wirkung, die sich spezifisch gegen diejenigen Zellen richtet, die als Antigene dienten; doch auch in der Eprouvette üben sie eine antagonistische Wirkung auf die Zellen des Antigens aus, entweder durch Lähmung der Bewegungen, wie z. B. bei den toxischen Seris gegen die Spermatozoen und die Flimmerepithelien (Spermotoxine, Trichotoxine), oder durch Auflösung, respektive Agglutination der Zellen.

Mit diesen Untersuchungen beginnt die biologische Ära, in der die Immunitätslehre sich den Fragen der Zellularpathologie zuwendet, um sie von dem neuen Gesichtspunkte aus zu erörtern. Denn die Zytotoxine ließen den Mechanismus der Pathogenese bei einigen Erkrankungen in einem wesentlich anderen Lichte erscheinen und legten die Deutung einer Reihe von Zellschädigungen und klinischen Bildern nach ganz neuen Vorstellungen nahe. Es gelang nämlich mittels der Nephrotoxine bei Versuchstieren schwere Nierenläsionen mit Albuminurie und Zylindrurie zu erzeugen, und das hepatolytische Serum war imstande, die klinischen Symptome und das anatomische Bild der Leberzirrhose einerseits, der akuten gelben Leberatrophie andererseits hervorzurufen. Durfte da nicht mit Rücksicht auf solche Befunde die Hypothese erwogen werden, ob nicht der Organismus infolge der Resorption von Leber- oder Nierenparenchym Zytotoxine bilden könne, die das Leber- oder Nierenparenchym schädigen und so Hepatitiden und Nephritiden veranlassen?

Die Pathologie und die Klinik wurden somit in ganz neue Bahnen gelenkt, aber auch die Therapie ließ sich dazu verführen,

neue Wege in der Serotherapie der Tumoren mittels spezifischer Zytotoxine für Sarkom- und Karzinomgewebe einzuschlagen.

Angewandte biologische Reaktionen.

Eine weit größere Bedeutung war den Zytotoxinen infolge ihrer diagnostischen Anwendungen gesichert. In diesen antizellulären Seris wurden nämlich, in vollständiger Übereinstimmung mit den an den antibakteriellen Seris gemachten Beobachtungen, wieder Agglutinine für die zellulären Elemente und Präzipitine für deren protoplasmatische Bestandteile vorgefunden; die Reaktionsprodukte waren mithin ebenso mannigfaltig, wie bei den antibakteriellen Seris und auch die Reaktionen trugen denselben spezifischen Charakter. Dementsprechend übte ein gegen das Blut einer bestimmten Tierspezies bereitetes Serum unter bestimmten Bedingungen nur auf dieses Blut eine lytische, agglutinierende und präzipitierende Wirkung aus. Daher konnte die in der gerichtlichen Medizin so häufige Frage, ob ein Blutfleck menschlichen oder tierischen Ursprunges sei, mittels dieser biologischen Reaktionen in zufriedenstellender Weise gelöst werden.

Sehr bald kamen noch neue Beobachtungen hinzu, die den Kreis der einer Untersuchung mittels der biologischen Reaktionen zugänglichen Probleme erweiterten. Die Reaktionsfähigkeit des Organismus erwies sich als eine viel allgemeinere: nicht bloß auf die Zellen allein, sondern auch auf die Einführung von artfremdem Eiweiß antwortet er mit der Erzeugung antagonistischer Stoffe. Man fand spezifische Präzipitine nicht bloß im Serum von Tieren, die mit artfremdem Blut, Fleisch, Milch, Eiern oder organischen Flüssigkeiten im allgemeinen vorbehandelt waren, sondern auch in dem von Tieren, die mit isolierten Proteinen, wie Kasein, den kristallisierten Ovo- und Serumalbuminen, den Globulinen vorbehandelt waren. Die Präzipitinmethode fand auch noch andere praktische Anwendungen; sie kann in ganz ähnlicher Weise dazu dienen, die Herkunft einer Fleischprobe festzustellen, ob sie vom Pferd, vom Rind, vom Schwein oder von einem anderen Tiere stammt. Auch für Pflanzeneiweiß konnte man spezifische Präzipitine herstellen, die bald zur Erkennung verschiedener Mehlsorten verwendet wurden, um die minderen Qualitäten von den feineren Mais- und Roggensorten zu unterscheiden. Die Technik derartiger Untersuchungen erfordert, wie wir sehen werden, eine gewisse Geschicklichkeit und große Umsicht, weil die präzipitierenden

Sera nicht ausschließlich auf die Proteine wirken, für die sie hergestellt wurden, sondern auch, allerdings in geringerem Grade, auf das Eiweiß von phylogenetisch verwandten Tiergattungen. So fand die umstrittene Verwandtschaft zwischen Mensch und Affe, Hund und Wolf und im allgemeinen zwischen Tiergattungen derselben Familie eine neue Bestätigung in der Präzipitinprobe, die innerhalb einer gegebenen Klasse nur quantitative Unterschiede entsprechend dem Verwandtschaftsgrade zeigte. So unterscheiden sich die Blutproben der anthropomorphen Affen in ihrem Verhalten bei der Präzipitinreaktion nur nach Anwendung besonderer Kunstgriffe von solchen des Menschen, was für die nahe Verwandtschaft der beiden Spezies in der Tierreihe spricht.

Die Präzipitine bieten uns eine Methode zur Klassifikation und Identifizierung der Spezies in der Botanik, Zoologie, Paläontologie und vergleichenden Anatomie, die es verdient, den morphologischen Charakteren zur Seite gestellt zu werden, die bis nun das hauptsächlichste Unterscheidungsmerkmal gebildet hatten. In der Lösung der Probleme der Ernährung und des Stoffwechsels im gesunden und kranken Zustand, boten diese biologischen Reaktionen ein äußerst feines Hilfsmittel, welches gestattet, das Schicksal der dem Organismus zugeführten Proteine zu verfolgen. Die heute von den Biologen wohl allgemein anerkannte Annahme, daß die Proteine im Verdauungskanal eine weitgehende Spaltung erleiden, mit nachfolgendem Wiederaufbau von für den Organismus spezifischem Protein, ließ sich mit Hilfe der biologischen Reaktionen experimentell bestätigen. Letztere förderten nämlich Verschiedenheiten zwischen dem mit der Nahrung eingeführten und dem in den Säften zirkulierenden Eiweiß zutage, zu deren Feststellung die chemische Analyse mittels komplizierter, auf dem Abbau der Moleküle beruhender Untersuchungen nur mühsam einige Anhaltspunkte gewinnen ließ. Die biologischen Reaktionen gestatteten das direkte Studium des Proteinmoleküls, das unverändert zur Beobachtung gelangt, während die chemische Analyse auf die Bearbeitung der Spaltungsprodukte angewiesen war und aus den Bruchstücken das Gesamtbild der großen Eiweißmoleküle wieder aufbauen mußte.

Die so heiß umstrittene Frage der künstlichen Säuglingsernährung, deren Schädigungen man fast ausschließlich auf die Verunreinigungen der Milch zurückzuführen pflegte, wurde

durch diese Untersuchungen wieder angeregt, indem ein Teil ihrer schädlichen Wirkung auf die tiefgehenden Unterschiede zwischen den Eiweißkörpern, speziell zwischen dem Kasein der Frauen- und Kuhmilch, zurückgeführt werden konnte. Der Organismus des Neugeborenen wurde einer genauen Untersuchung seiner Verdauungsfunktionen mittels der Präzipitinreaktion unterzogen; dabei zeigte er eine im Vergleiche zum Erwachsenen erhöhte Durchgängigkeit für artfremdes Eiweiß, woraus indirekt ein Vorzug der natürlichen Ernährung abgeleitet werden durfte. Aber auch die Klinik benützte diese Untersuchungsmethoden, die so empfindlich sind, daß sie bis zu Millionstelgrammen Eiweißstoffe entdecken helfen, um den Wirkungsmechanismus mancher Nephritiden zu erforschen. Das mit dem Urin ausgeschiedene Eiweiß erwies sich als identisch mit dem Seroalbumin, womit sein Ursprung aus dem Bluteiweiß festgestellt war. Bei gewissen Formen von Nephritiden, die infolge des Genusses von Hühnereiweiß auftreten, fand man neben dem aus dem Organismus stammenden Eiweiß auch noch das Hühnereiweiß. Dies bestätigt die Annahme, daß in manchen Fällen auch die von der Darmwand des Erwachsenen gebildeten Schranken durchbrochen werden können, um dem noch unveränderten Eiweiß der Nahrung den Durchgang zu gestatten.

Thermopräzipitation.

Auch die präzipitierenden Eigenschaften der antibakteriellen Sera, welche lange unverwertet geblieben waren, konnten weiterhin zum Nachweis von Infektionskrankheiten mit Erfolg verwendet werden. Nachdem A. Ascoli und Valenti (1911) nachgewiesen hatten, daß es mittels eines präzipitierenden Milzbrandserums gelingt, die spezifischen Bestandteile des Bacillus anthracis in den infizierten Organen zu erkennen und dieselben Forscher in der Auskochung der Untersuchungsobjekte eine einfache Methode zur Gewinnung geeigneter, eine prompte Ausführung der Präzipitindiagnose gestattender Extrakte angegeben hatten, hat sich diese als Thermopräzipitinreaktion bekannte Form der Bakterienpräzipitation bald in der Diagnose speziell von Tierseuchen allgemein bewährt. Die Thermopräzipitation ermöglicht nämlich den Nachweis der löslichen Bestandteile der verschiedensten Infektionserreger, unter jeweiliger Heranziehung des spezifisch präzipitierenden Serums, so bei Milzbrand, Rotlauf, Rauschbrand, Fleischvergiftungen, Tuberkulose, Pest usw.; sie gelingt auch noch zu einer Zeit, da die bakteriologischen

Methoden wegen zu tiefgreifender Zersetzung der Untersuchungsobjekte versagen und wird hauptsächlich bei der Diagnose von Tierseuchen, die auf den Menschen übertragbar sind, angewendet. Die präzipitierende Wirkung, die das Serum im Verlaufe gewisser Krankheiten erwirbt, wurde zur Serodiagnose ebenso ausgenützt, wie dies bei der nun schon klassisch gewordenen Widalschen Probe mit der Agglutination geschieht. Beim Typhus sind die im Krankenserum vorhandenen Agglutinine die Antikörper, die zum serodiagnostischen Versuch benützt werden; bei der Echinokokkose dagegen sind es die Präzipitine; diese gelangen als Reaktionsprodukte des Organismus auf die Zystenflüssigkeit in den Kreislauf, während bei der Syphilis die Präzipitationsreaktion (Bruck, Sachs-Georgi), die nach dem Eindringen der Spirochaete pallida in den Körper im Serum auftritt, uns nicht nur die Serodiagnose der luetischen Infektion, sondern auch, was noch bedeutsamer ist, einen Einblick in den inneren Wirkungsmechanismus dieser Vorgänge ermöglicht.

Die Serodiagnostik hat also in letzter Zeit das Interesse der Immunitätsforscher vielleicht in stärkerem Maße zu fesseln gewußt als die Serotherapie. Die Wechselwirkungen zwischen Antigenen und Antikörpern, die unseren Sinnen als Phänomene der Agglutination, der Lyse oder der Präzipitation direkt zugänglich sind, erzeugten greifbarere und deutlichere Resultate als die klinischen und experimentellen Versuche, die darauf ausgingen, neue serotherapeutische Heilverfahren auszuprobieren und einzuführen.

Komplementbindung.

Bis zu diesem Zeitpunkte hatte man jedoch zu serodiagnostischen Zwecken nur den direkten Nachweis benützt, wie er in der analytischen Chemie geübt wird, welche sich ja bei ihren Versuchen ebenfalls der Präzipitation und Lyse bedient. Die indirekte Untersuchungsmethode, welche dem Indikator des Chemikers entsprechend Reaktionen zu verfolgen gestattet, die mit unseren Sinnen nicht direkt wahrnehmbar sind, war bis dahin noch nicht zur Anwendung gelangt. Durch einen Kunstgriff dieser Art konnten Bordet und Gengou feststellen, daß Reaktionen zwischen Antigenen und Antikörpern unbemerkt auch dort vor sich gehen, wo keine in vitro oder in vivo direkt nachweisbaren Erscheinungen auftreten.

Der geeignete Indikator wurde von Bordet in dem hämolytischen System, bestehend aus roten Blutkörper-

chen, hämolytischem Serum, frischem Meerschweinchenserum gefunden, das schon infolge der Arbeiten Ehrlichs und Bordets von größter, wenn auch rein theoretischer und doktrinärer Bedeutung für die Erklärung der Immunitätsphänomene geworden war.

Bordet machte zusammen mit Gengou die interessante Beobachtung von großer praktischer Tragweite, daß nämlich bei den Reaktionen zwischen Antikörpern und Antigenen dem hämolytischen System ein zur Lyse unentbehrlicher Bestandteil — das thermolabile Element des Hämolysins — entzogen und so die Hämolyse gehemmt wird.

Die Bedeutung dieses Phänomens wurde in ihrer ganzen Ausdehnung erst durch die Untersuchungen von Moreschi erkannt, die den Ausgangspunkt einer Reihe neuer Versuche über die Komplementbindung bildeten.

Die Methode von Gengou-Moreschi, zu deren Verständnis die Kenntnis der genialen Hypothesen von Ehrlich und Bordet erforderlich ist, weil sie auf ihnen beruht, war ursprünglich nur ein Mittel, um die schon mittels der Koagulations- und lytischen Methoden erhobenen Befunde zu bestätigen. In der Folge wurde sie mit ausgezeichneten Resultaten auch in den Fällen angewendet, wo — wie z. B. bei der Echinokokkose — die anderen Reaktionen weniger gute Resultate gezeitigt hatten.

Derartige Anwendungen der Komplementablenkungs- oder -bindungsmethode, deren Name eben die Entziehung des thermolabilen Elementes (Komplement) des Hämolysins seitens des Systems Antikörper + Antigen, auf der die Hemmung der Hämolyse beruht, ausdrücken soll, hätten trotzdem nicht genügt, die Aufmerksamkeit des praktischen Arztes in dem Maße auf die Serologie zu lenken, wie dies seit einigen Jahren geschieht. Das allgemeine Interesse wandte sich ihr erst zu, als nach Entdeckung der Spirochaete pallida und den erfolgreichen Versuchen der Übertragung der Syphilis auf Tiere der Gedanke aufkam, die Serodiagnose auch bei dieser Krankheit zu versuchen. Der Erfolg blieb auch nicht aus, denn die von Wassermann mit scharfem Blick erfaßte und mit glücklichem Griffe durchgesetzte Verwertung der Bordet-Gengouschen Methode als eines diagnostischen Hilfsmittels bei Syphilis bürgerte sich trotz aller theoretischen Anfechtungen in der Praxis

sehr rasch ein, nicht nur wegen ihres diagnostischen Wertes, sondern auch wegen der therapeutischen Indikationen, die sich aus ihr ergeben und auch weil sie als Bestätigung der klinischen Annahmen vom syphilitischen Ursprung der metasyphilitischen Erkrankungen dient.

Die Serodiagnostik erwies sich so als eines der empfindlichsten und feinsten Mittel, durch die der Arzt das dunkle Gebiet so mancher infektiöser Krankheitsformen aufzuklären imstande ist und die experimentelle Forschung überhaupt den Nachweis bestimmter protoplasmatischer Stoffe, welcher Art immer, zu führen vermag. Sie gestattet uns ohne Mikroskop und ohne die komplizierten Hantierungen des Bakteriologen oder des Chemikers, in die Geheimnisse des zellulären oder bakteriellen Stoffwechsels einzudringen und mittels besonderer biochemischer Reaktionen der chemischen Untersuchung unzugängliche Stoffe zu enthüllen; es gelingt ihr, minimale, sonst nicht nachweisbare Unterschiede zwischen den einzelnen Bakterien- und Zellarten zu entdecken und die protoplasmatischen Stoffe, besonders die Proteine, besser und feiner zu differenzieren als irgendein chemisches Reagens.

Meiostagmine.

Auch die Untersuchungsmethoden der physikalischen Chemie ließen sich für praktische serodiagnostische Zwecke heranziehen. Die Immunitätsreaktionen wurden zwar, theoretisch gesprochen, schon seit geraumer Zeit als Reaktionen physikalisch-chemischer Natur zwischen kolloiden Systemen mit verschiedener Ladung angesehen.

Dabei treten aber auch in vitro nachweisbare Veränderungen der Oberflächenspannung auf. Mittels eines sehr einfachen Apparates, des Stalagmometers von Traube, der dazu dient, die Zahl der Tropfen in einem bestimmten Volumen zu messen. kann man nachweisen, daß in Mischungen von Antikörpern und Antigenen die Tropfen kleiner und daher bei gleichem Volumen zahlreicher sind als unter normalen Bedingungen (μείων = kleiner, στάγμα = Tropfen).

Abwehrfermente.

Durch das Eingreifen eines Physiologen in die uns hier interessierenden Fragen der biochemischen Diagnostik ist weiterhin der Beweis erbracht worden, daß auch feinere, bloß mit den Apparaten und Reagentien der chemischen Analyse erkennbare Veränderungen im Serum nach parenteraler Zufuhr körper- und blutfremder Substanzen auftreten. Abderhalden,

der auf dem Gebiete des Auf- und Abbaues der Polypeptide rastlos tätige Forscher, wurde nämlich im Laufe seiner Untersuchungen dazu geführt, das Spaltungsvermögen des Serums gegenüber Peptonen und Peptiden genauer zu studieren. Er konnte dabei feststellen, daß der Organismus auf deren parenterale Einführung mit der Bildung von Abwehrfermenten antwortet, welche dem Serum ein mehr oder weniger spezifisches Spaltungsvermögen gegenüber dem jeweils verwendeten Substrat verleihen, das sich durch die Bildung optisch aktiver und leichter dialysierbarer Produkte qualitativ und quantitativ bestimmen läßt. In ähnlicher Weise treten nach Abderhalden bei gewissen physiologischen und pathologischen Zuständen spezifische Abwehrfermente auf, die diagnostisch verwertbar zu sein scheinen. Auf dieser Grundlage fußt die Abderhaldensche Schwangerschaftsdiagnose; diese vermag die leicht dialysierbaren Spaltungsprodukte nachzuweisen, die in vitro aus dem Plazentareiweiß austreten infolge der Wirkung der spezifischen Abwehrfermente, welche im Schwangernserum auf den Reiz der heterogenen Plazentarmasse hin gebildet werden.

Es haben also seit einiger Zeit die Fortschritte der Diagnostik die der Serotherapie überflügelt und zur Bereicherung der medizinischen Untersuchungsmethoden wesentlich beigetragen, indem die biologischen Reaktionen eine wichtige Ergänzung zu den mehr physikalischen Methoden der medizinischen Diagnostik lieferten.

Serumtherapie.

Aber auch die Serumtherapie ist nicht bei ihren ersten Erfolgen gegen Diphtherie, Tetanus, Schlangengift stehengeblieben; man kann vielmehr behaupten, daß es kaum eine infektiöse Krankheit gibt, bei der man nicht ein Heilserum versuchte. Haben jedoch die Resultate den Erwartungen entsprochen, die man in den ersten Zeiten der serotherapeutischen Ära gehegt hatte?

Es ist schwer, heute, wo noch so viele Fragen einer objektiven Lösung harren, hierauf eine endgültige Antwort zu geben.

Viele Sera sind sicher mit Recht in Vergessenheit geraten, während über andere ein endgültiges Urteil noch nicht abgegeben werden kann. Auf Grund einer objektiven Abschätzung der bisherigen bei der Bekämpfung der Tierseuchen erzielten Ergebnisse muß aber schon heute von den in der tierärztlichen

Praxis eingeführten Seris das Rotlauf- und Milzbrandserum rückhaltlose Anerkennung finden, und man darf wohl die Sera gegen Pferdedruse, Kälberruhr, Rauschbrand und Schweineseuche, sowie jenes gegen das filtrierbare Virus der Schweinepest ruhig empfehlen; dagegen vermochte die Serumtherapie z. B. bei der Maul- und Klauenseuche noch keine durchschlagenden Erfolge zu verzeichnen.

Wenn wir uns den Errungenschaften der Serumtherapie beim Menschen zuwenden, so kommen für den Praktiker neben der Heilwirkung des Diphtherie- und Schlangengiftserums und der Schutzkraft des Tetanusserums noch die kurative Wirkung des Dysenterieserums gegen die bazilläre Ruhr, welche als experimentell bewiesen gelten kann, und jene des Milzbrandserums in Betracht. Hieher gehört auch das Meningokokkenserum, welches bei subduraler Anwendung im Verlaufe der Meningitis cerebrospinalis von guter Wirkung ist, und das Gonokokkenserum, welches die sekundären Komplikationen der Gonorrhöe günstig beeinflußt. Im Einklange mit den Erfolgen am Krankenbette läßt sich experimentell im Dysenterieserum ein antitoxisches Vermögen feststellen, im Milzbrandserum eine das Auskeimen der Milzbrandbazillen hemmende antiblastische Wirkung, im Meningokokkenserum das Vorkommen von Opsoninen, d. h. Substanzen, welche die Keime zur Phagozytose vorbereiten.

Bei den übrigen antibakteriellen Seris muß man sich noch reserviert verhalten; eher optimistisch gegenüber dem Streptokokkenserum, wohlwollend bei dem Pneumokokken- und dem Gasbrandserum, hingegen skeptisch bezüglich des Cholera- und Staphylokokkenserums. Diese Zurückhaltung scheint auf den ersten Blick gegen das allgemeine Gesetz zu verstoßen, nach dem der Organismus auf die Einführung von Antigenen mit der Produktion von Antikörpern reagiert. Zweierlei Erwägungen dürften uns jedoch einen tieferen Einblick in die unerwarteten Mißerfolge der Serotherapie bei einzelnen Infektionskrankheiten gewähren. Das Ausbleiben der Serumwirkung läßt sich nämlich auf zweifache Art erklären, erstens durch Abweichungen in den Eigenschaften der Krankheitskeime, zweitens durch solche in der Reaktion des immunisierten Organismus. Wenn die Entwicklung der pathogenen Keime in dem mit dem Serum zu schützenden Organismus anders verläuft als im serumliefernden

Tiere, versagen die in letzterem gebildeten Antikörper zur Bekämpfung der Infektion, weil sie bloß gegen die im speziellen Substrate gebildeten Stoffwechselprodukte wirksam sind. Diese Annahme wird auch gestützt durch die Tatsache, daß ein und derselbe Keim in verschiedenen Organismen einen verschiedenen Virulenzgrad zeigt, und sie findet sich durch einige Beobachtungen bezüglich des Streptokokkenserums bestätigt, aus denen hervorgeht, daß sein Gehalt an für Menschen nützlichen Antikörpern in direktem Verhältnis zu der pathogenen Wirkung steht, welche die bei der Serumproduktion als Antigen verwendeten Streptokokken auf den Affen ausüben.

Anaphylaxie.

Zu noch überraschenderen Resultaten gelangen wir jedoch, wenn wir die Reaktion des Organismus in Betracht ziehen. Derselbe antwortet in dem klassischen Beispiele der Immunisierung gegen Diphtherie regelmäßig mit der Erzeugung antagonistischer Stoffe. Immerhin hatte Behring schon bei den ersten Versuchen zur Gewinnung von Tetanusserum bemerkt, daß diese Regel Ausnahmen erleidet; einige Tiere wurden dabei nicht refraktär gegen Tetanustoxin, sondern im Gegenteil überempfindlich gegen das Gift. Die Frage kam jedoch erst viele Jahre später in Fluß, als der französische Physiologe Richet (1902) bei der Reinjektion gewisser Gifte an Stelle einer Resistenzerhöhung regelmäßig eine gesteigerte Empfindlichkeit und eine beschleunigte Reaktion bei der Gifteinführung am vorbehandelten Tiere beobachten konnte. An die Feststellung dieser Umstimmung des Organismus gegenüber tierischen und pflanzlichen Giften (Kongestin, Krepitin) reihten sich die Beobachtungen über die Folgen der Reinjektion des an sich ungiftigen Pferdeserums, welche in dem Tod der vorbehandelten Versuchstiere und beim Menschen in unangenehmen Hauterscheinungen zum Ausdruck kamen. In der Folge häuften sich diese Beobachtungen paradoxer Reaktionen und es wurden die Überempfindlichkeit erzeugenden Stoffe im Serum nachgewiesen, so wie man in demselben schon die Immunkörper entdeckt hatte. Diese Beobachtungen führten zu der Auffassung, daß die Einführung heterogener Substanzen ganz allgemein einen besonderen Zustand hervorruft — die Allergie*) —, infolgedessen der vorbehandelte Organismus anders reagiert, als der

*) Das Wort Allergie ist hier im wörtlichen Sinne (anders reagierend), nicht im klinischen nach v. Pirquet benützt.

normale. Die Allergie kann unter zwei ganz verschiedenen Formen auftreten: entweder wird der Organismus refraktär, d. h. immun, oder überempfindlich, d. h. anaphylaktisch (siehe das Schema). Einige Gifte, wie das Kongestin und das Krepitin rufen regelmäßig Anaphylaxie hervor, das artfremde Serum selbst veranlaßt das Auftreten sowohl von Immunitätsreaktionen (Präzipitinen) als von anaphylaktischen Reaktionen, die unter dem Namen Arthussches Phänomen beim Kaninchen, Smithsches beim Meerschweinchen und Serumkrankheit beim Menschen bekannt sind.

Die Form der Allergie, die bei der Diphtherie vorherrscht, ist die Immunität, die in den großartigen Erfolgen der Serumtherapie bei dieser Krankheit gipfelt. Bei der Tuberkulose dagegen kommt die Anaphylaxie in ganz prägnanter Weise zum Ausdruck, daher hier die Mißerfolge der Serumtherapie. In der Anaphylaxie finden wir auch die Erklärung der besonderen Disposition für manche Infektionskrankheiten, z. B. für die Lungenentzündung, welche bei vielen Individuen nach einer ersten Attacke sich wiederholt einstellt. Ebenso sind die Tuberkulinreaktion bei Tuberkulose, die Malleinreaktion bei Rotz und die Luetinreaktion bei Lues, die uns wertvolle Anhaltspunkte zur Diagnose dieser Krankheiten liefern, als anaphylaktische Erscheinungen zu deuten.

Nicht spezifische Allergie.

Neben den gewöhnlichen klassischen und spezifischen Formen der Immunität und Anaphylaxie, die die Allergie zeigt, ziehen besonders ihre nicht spezifischen Erscheinungen unsere Aufmerksamkeit auf sich; sie bieten bedeutende theoretische und nicht unwichtige therapeutische Aussichten und auch neue und interessante Anknüpfungsmöglichkeiten an die allgemeine Biochemie. Was die wahre, eigentliche Immunität betrifft, so haben wir bisher nur von der spezifischen gesprochen, die entweder durch das Auftreten von Antikörpern in Erscheinung tritt (erste Immunität) oder eine bleibende Unempfindlichkeit der Gewebe darstellt (zweite Immunität).

Dritte Immunität.

Grundsätzlich verschieden ist der Wirkungsmechanismus der sogenannten dritten Immunität. Diese Bezeichnung wurde von Centanni eingeführt, um die Form der nicht spezifischen Immunität, die besonders beim Abdominaltyphus beobachtet wird, von den beiden klassischen Formen der Immunität zu unterscheiden: nämlich von der ersten, die spezifische

Antikörper im Serum bildet, und von der zweiten, welche das Körpergewebe unempfindlich macht (Gewebsimmunität). Beim Typhus treten zwar spezifische Antikörper im Serum auf, aber die erste Immunität ist nur imstande, eine spezifische prophylaktische Wirkung mittels der Vakzine zu entwickeln, kann jedoch ihre kurative Aufgabe nicht erfüllen; gerade beim Typhus hat sich eine neue Form der kritischen Lösung des Infektionsprozesses gezeigt, die nicht von den gewöhnlichen Antikörpern und Antigenen ausgeht, sondern von nicht spezifischen bakteriellen und sogar auch nicht bakteriellen Produkten, die dem kranken Organismus auf intravenösem Weg einverleibt werden. Beim Bauchtyphus zeigen sich nun die beiden Eigentümlichkeiten der dritten Immunität: sie ist nicht spezifisch, denn der Heilerfolg tritt außer auf die homologe Typhusvakzine auch nach Anwendung von heterologen (aus den verschiedensten Bakterienarten bestehenden) Vakzinen auf, sowie auf Proteine (normales Pferdeserum, Milch-Pepton-Deuteroalbumose) und auf kolloidale Präparate (Gold, Silber, Schwefel), und eine intravenöse Einverleibung ist nötig, um im Organismus den Shock zu bewirken, der die Krisis auslösen kann.

Nicht spezifische Immunität.

Bilden nun diese Haupteigentümlichkeiten der dritten Immunität — daß nämlich das kurative Prinzip nicht spezifisch ist, und intravenös eingespritzt werden muß — wirklich die Grundlage, auf der ein neues Gebäude der Immunitätslehre errichtet werden kann? Die Antwort auf diese Frage, die jetzt auf den Lippen aller Immunitätsforscher schwebt, kann natürlich erst gegeben werden, wenn dieses Gebäude durch das unumgänglich notwendige experimentelle Gerüst gestützt sein wird. Indessen fehlt es jedoch nicht an Vorzeichen einer völligen Neuorientierung im Kampfe gegen die Infektionskrankheiten; es ist der Eindruck vorherrschend, daß unter dem Ansporn gewisser Reize jeder Organismus aus den eigenen physiologischen Reservedepots gegen Infektionen allgemein wirksame neutralisierende Substanzen aufbringen kann. Über die Art, wie sich eine solche Mobilisierung vollzieht, können nur Hypothesen aufgestellt werden. Immerhin erscheint unter diesen zahlreichen Theorien jene aussichtsreich, die annimmt, der Shock sei eine Folge von Proteinzerfall (Vaughan), dessen Ursache in artfremdem Material zu suchen sei. Diese zerfallenden Proteine stammen aus dem eingeführten Material oder aus dem Proto-

Zusammenhang mit der Immunitätslehre.

plasma des Körpers selbst unter dem schädigenden Einfluß der verschiedenen intravenös injizierten Substanzen. Diese Auslegung würde auf einfache Art erklären, warum so verschiedene Eiweißsubstanzen wie das Pferdeserum, das Milchpepton, und Nicht-Eiweißkörper wie kolloidale Metalle eine fundamental gleiche Wirkung ausüben können; eine experimentelle Bestätigung hiefür liefert die antiinfektiöse Wirkung des Peptons und die Mobilisierung der Leukozyten (Carra), die durch das Pepton erzielt wird.

Praktische Anwenduug. Stomosine.

Die erste und verbreitetste Art der Anwendung geschah in Form von kurativen Impfungen nach Ishikawa beim Bauchtyphus, wo man die spezifische Vakzine durch die heterologe (Paratyphus, Koli usw.) und ebenso durch Proteine oder Kolloide mit ziemlich gleichartigen therapeutischen Ergebnissen ersetzen konnte. Centanni erweiterte den Plan und die Anwendungsmöglichkeiten dieser Methode, nannte sie Stomotherapie und bezeichnete mit Stomosin das Injektionsmaterial, das den Organismus gegen die Infektion stählen (στομόω) sollte.

Anaphylatoxin.

Sehr interessant, obwohl bis nun ohne praktische Anwendung, ist die Theorie Friedbergers, schon dadurch, daß sie, durch praktische und theoretische Arbeiten gestützt, ein helles Licht auf die Pathogenese der Infektionsprozesse und des Fiebers wirft. Friedberger schreibt nämlich einer besonderen Form der Anaphylaxie, der Bildung eines nicht spezifischen Anaphylatoxins die Allgemeinerscheinungen der Infektionskrankheiten zu. Die unbestreitbare und experimentell nachgewiesene Tatsache, daß bei der Auflösung der Bakterien durch frisches Serum ein allgemein wirksames Toxin entsteht, das Anaphylatoxin, welches in hohen Dosen tödliche Kollapstemperaturen hervorruft, in schwächeren Dosen hohes Fieber macht und erregend wirkt, gibt der Friedbergerschen Hypothese eine feste und brauchbare Grundlage; demnach sollen fast alle Krankheitserscheinungen des infizierten Körpers auf demselben Agens beruhen, das er Anaphylatoxin nennt und das sich wahrscheinlich im allergischen Organismus in einer ähnlichen Weise bildet, wie die anaphylaktischen Substanzen, nur mit dem Unterschied, daß es eben nicht spezifisch, sondern allgemein wirksam ist. Die Gleichartigkeit des Anaphylatoxins, sei es nun entstanden aus der Einwirkung von frischem Serum allein oder aus der Einwirkung von Antikörpern auf die verschiedensten Mikroben, auf rote Blutkörperchen

oder auf lösliche Proteine, die Möglichkeit, es aus dem Serum durch einfache physikalisch-chemische Behandlung oder auch als Zwischenprodukt im Verlauf der Bakteriolyse zu gewinnen, das Auftreten von Proteinzerfallsprodukten, die unter anderem Anaphylatoxin enthalten, dies alles sind Gründe für die Annahme, das Anaphylatoxin sei in irgendeinem parenteralen Stoffwechselprodukt enthalten (Vaughan). Von diesem Gesichtspunkt aus ist der Vergleich zwischen den folgenden beiden Schemata

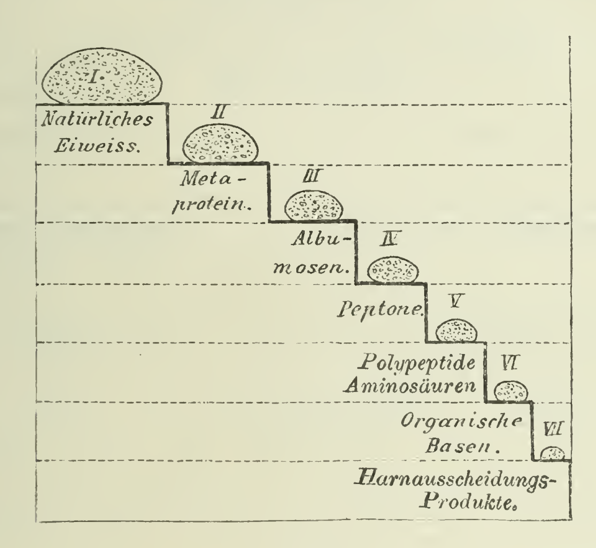


Fig. 1.

Stufenförmiger Zerfall des Eiweißmoleküls nach Centanni; zunehmende Verminderung der Größe und der Spezifität des Moleküls.

interessant: das erste (von Centanni) stellt in graphischer Form die Stufenleiter dar, in der das natürliche Protein von dem zweiten Abbauprodukt, das die Stomosine enthält, bis zur sechsten Stufe abfällt, wo das Gift des Fiebers und die Stomosine frei werden. Das zweite stammt von Schittenhelm und Weichardt; hier sind die toxischen Proteinzerfallsprodukte fett gedruckt.

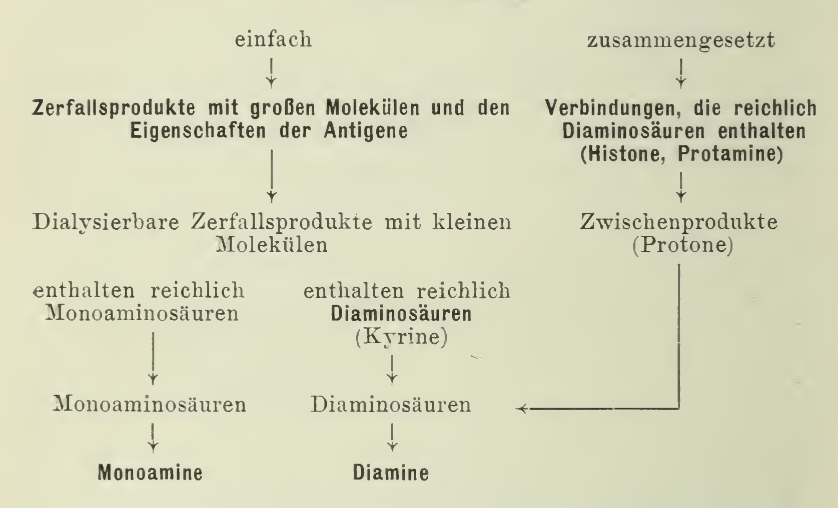
Wir haben uns bei diesen Untersuchungen aufgehalten, die dahin zielen, in der Immunitätslehre wichtige Grundsätze der Biochemie ebenso wie grundlegende Tatsachen der Proteinchemie anzuwenden; in diesem Punkte könnten neue Forschungen

einsetzen, deren Endziel wäre, das Dunkel der Serologie aufzuhellen und ihr das ganze Vertrauen der exakten Wissenschaft zu erringen, die nach eben dieser Aufklärung des Zusammenhanges zwischen chemischer Konstitution und biologischer Wirkung verlangt.

Bildung der basischen Abbauprodukte des Proteinstoffwechsels.

(Nach Schittenhelm und Weichardt.)

Echtes Eiweiß.



Wird aber diese neue Richtung, der sich die Immunitätsforscher nun zuzuwenden beginnen, der hochgespannten Erwartung entsprechende Ergebnisse zutage fördern? Werden Therapie und Diagnostik, die schon durch die großen Errungenschaften der Erkenntnis spezifischer Antigene und Antikörper in reichem Maße befruchtet und ausgebaut worden sind, nun auch gleichen Nutzen von den neuen Annahmen nicht spezifischer Gifte und neutralisierenden Substanzen ziehen, welche allmählich festere Form zu gewinnen scheinen?

Die Immunitätsforschung im Weltkrieg.

Eine Folge des Weltkrieges waren praktische Versuche im größten Stil, während die Theorien in den Hintergrund traten. Es sind allerdings auch einige Fortschritte zu verzeichnen, die

nichts mit dem Krieg zu tun haben, und zwar: der intensive Kampf gegen die Beschälseuche, der in Amerika einsetzte und auf Anregung von Möhler, Eichhorn und Buck zur systematischen Verwendung der Komplementbindungsmethode zwecks Erforschung der Infektionsträger (Trypanosomen der Dourine) führte; dann die Bekämpfung der Lungenentzündung, die unter den eingeborenen Bergarbeitern des Transvaal Verheerungen anrichtete, mittels einer besonderen Vakzine, die in gleichen Proportionen die verschiedenen Typen der Pneumokokken enthielt, welche aus den Lungenherden der verseuchten Bergarbeiter isoliert worden waren. Die mehr chemische Auffassung der Wassermannschen Reaktion und ihr Zusammenhang mit der Präzipitierbarkeit der Globuline (Bruck) hat in den Ausflockungsmethoden der luetischen Sera von Sachs-Georgi und Meinicke eine praktische Verwertung von weittragender Bedeutung gefunden, die durch den Kriegszustand sicher nicht gefördert wurde. Eine allerdings bloß indirekte Folgewirkung des Krieges ist es auch, wenn es uns gelungen ist, bei der Zivilbevölkerung festzustellen, daß wir irrtümlich bei der Dysenterie der Agglutination mit dem Immunserum dieselbe Bedeutung zugeschrieben haben, wie bei Cholera und Typhus; die Reaktion hat hier bloß den Wert eines Mittels zum Nachweis des Shiga-Bazillus, kann aber zur Differenzierung der Pseudo-, Para- und Meta-Dysenteriebazillen nicht dienen, sondern eher dazu, die verschiedenen Gruppen zueinander in Beziehung zu bringen und auch entfernt verwandte Stämme in diesen geordneten Zusammenhang einzureihen.

Entwertung der Widalschen Probe.

Aber eine unmittelbare Kriegsfolge war die Einführung der obligatorischen Typhusschutzimpfung im Heere und der Einfluß, den die Durchführung einer solchen prophylaktischen Maßregel auf die Bewertung des positiven Widals bei typhusverdächtigen Soldaten nahm. Die Schutzimpfung bewirkt neben der erhöhten Widerstandsfähigkeit gegen die Infektion, als Folgeerscheinung und als unvermeidliche Reaktion der Körpersäfte auf die Einverleibung der Bazillenleiber, aus welchen eben die Vakzine besteht, das Auftreten spezifischer Agglutinine im Serum der Geimpften. Dadurch wird die Widalsche Reaktion entwertet oder doch ihre Bedeutung bei der Truppe sehr eingeschränkt, während ihr diagnostischer Wert bei typhösen Erkrankungen der nicht geimpften Zivilbevölkerung ganz unangetastet bleibt.

Spezifische Prophylaxe in großem Maßstab

Selbst der Verzicht auf die Widalsche Reaktion, welche übrigens keineswegs vollständig ist, da es auch bei den Geimpften möglich war, die Probe den speziellen Bedürfnissen anzupassen, war nur ein kleines Opfer, das durch die Vorteile der Vakzination für die Prophylaxe reichlich aufgewogen wurde. In diesem Sinne war der Krieg ein kolossales Experiment auf die Wirksamkeit der Schutzimpfungsmethoden; und man kann wohl sagen, daß sie diese Belastungsprobe glänzend bestanden haben. Es wäre ein Verkennen des hervorragenden Anteils, den die allgemeinen hygienischen Maßregeln an der Seuchenbekämpfung haben, wenn man den spezifischen Schutzimpfungen die mächtige Eindämmung der Cholera z. B. allein zuschreiben wollte; aber sicherlich wurden die allgemeinen Maßnahmen durch die Choleraschutzimpfungen unterstützt und durch die bakteriologischen Untersuchungen auf Cholera entscheidend beeinflußt, die durch eine andere Errungenschaft der Immunitätslehre, die Identifizierung des Choleravibrios durch das agglutinierende Immunserum erleichtert wurden.

bei der Cholera.

beim Typhus.

Auch die übertriebene Strenge in der Beurteilung der Ergebnisse der Typhusschutzimpfung war ungerecht, ebenso wie das hartnäckige Ableugnen ihrer Erfolge bei der Verminderung der Morbidität und Mortalität, bloß weil trotz dreimaliger Durchimpfung mehrere Typhusepidemien vorkamen. Man vergißt eben gar zu leicht, daß die Verschiebung des Gleichgewichtes im Kampfe zwischen den Mikroben und dem Menschen, die durch die Schutzimpfung bewirkt wird und experimentell nachgewiesen ist, durch die Verminderung der individuellen Widerstandsfähigkeit zunichte gemacht werden kann, infolge der allgemein schwächenden Ursachen, wie sie bei den Truppen, von denen man übermenschliche Anstrengungen und Entbehrungen verlangt, die Regel sind. Wenn bei durch Gewaltmärsche erschöpften Soldaten, wie es in bestimmten Fällen vorgekommen ist, trotz dreimaliger Schutzimpfung eine Epidemie ausbricht, während dieselbe Impfung bei der friedlichen Zivilbevölkerung, die in Gegenden, wo der Typhus herrscht, ständig in Infektionsgefahr ist, den aufflackernden Krankheitsherd sofort zu ersticken vermag, so kann man daraus wohl keine für die Typhusschutzimpfung ungünstigen Folgerungen ziehen. Nur in besonders günstigen Fällen führen die Impfungen zu einer nicht bloß relativen, sondern fast absoluten Vermehrung der Widerstandsfähigkeit. Die Jenner-

sche Impfung hingegen hat gerade in diesem Kriege ihren Ruf als souveränes Bekämpfungsmittel gegen Blattern erhärtet, weil sie eine Immunität bewirkt, die in der Praxis jeder Ansteckung ohne Ausnahme trotzt.

gegen Tetanus.

Noch eine zweite Impfung hat ebenso wie die Blatternimpfung ihren vollen Wert als Mittel der spezifischen Prophylaxe erwiesen. Dank der Präventiveinspritzungen mit Tetanusserum ist das drohende Gespenst des Tetanus, der bei infizierten Wunden so gefürchtet ist, fast verschwunden. Man muß zugeben, daß die Serumschutzimpfung gegen Tetanus den größtmöglichen Erfolg erzielt hat; denn wo die Präventivinjektionen auf alle Verwundeten ausgedehnt worden waren, sind die Tetanusfälle nahezu verschwunden oder auf vereinzelte, nicht tödliche Fälle reduziert worden. So kann die spezifische Prophylaxe ohne Übertreibung das Recht für sich in Anspruch nehmen, diese furchtbare Geißel früherer Kriege fast vollständig bezwungen zu haben.

Notwendigkeit der staatlichen Kontrolle.

Natürlich sind die Ergebnisse der spezifischen Schutzimpfungen sehr von der Wirksamkeit der angewendeten Sera und Impfstoffe abhängig, die daher staatlich kontrolliert werden müssen; dieses Kontrollrecht muß ausnahmslos und strenge ausgeübt werden, um diese obligatorischen Impfungen, die im Interesse der öffentlichen Gesundheitspflege und der Nationalökonomie sind, zu schützen und ihre Berechtigung aufrechtzuerhalten.

Um so mehr, als sich auch weitere Schutzmaßnahmen gegen die Tierseuchen als notwendig erweisen werden, denn diese Tierseuchen bedrohen die Nachzucht, wie z. B. bei den Schweinen, die sich vermehren müssen, wenn wir dem Fleischmangel, der durch den Krieg entstanden ist und der darüber hinaus andauert, abhelfen wollen.

Die Lösung solcher Probleme, die wir nur gestreift haben, ist trotz ihrer Wichtigkeit notwendigerweise von den zwingenden Bedürfnissen des Augenblicks beiseite geschoben worden, die die Hilfe der Immunitätslehre für die Diagnose und Therapie der Kriegsinfektionen verlangten.

Auswahl der Methoden bei der Serodiagnose.

So hat in der praktischen Diagnostik die häufige Verwendung der Agglutination bei der Choleradiagnose zu der Erkenntnis des Vorteils geführt, den ein gleichmäßiger Titer des Immunserums für eine schärfere Unterscheidungsmöglichkeit zwischen echten und choleraähnlichen Keimen bietet. Die Schaffung so vieler bakteriologischer Laboratorien hat dazu bei-

getragen, die Ausführung der heikleren serodiagnostischen Reaktionen, wie der Wassermannschen, durch Ärzte zu ermöglichen und zu erleichtern, die ohne den Krieg die technischen Schwierigkeiten vielleicht gescheut hätten; neben der erprobten Bedeutung in der Serodiagnose der Syphilis und den praktisch wichtigen Versuchen von Bruck hat die Wassermannsche Reaktion noch eine theoretisch-interessante Anwendung bei einer anderen Spirochätenerkrankung, dem hämorrhagischen Ikterus, gefunden.

Die Komplementbindung hat bei den Kriegsseuchen keine neuen Erfolge aufzuweisen, vielmehr ist sie für die Rotzdiagnose, wo sie sich neben der Konglutination hätte behaupten können. bei uns durch die Malleinprobe in Form der Lidreaktion verdrängt worden. Der Krieg hat eine Selektionswirkung auf die verschiedenen serodiagnostischen Methoden ausgeübt, indem die komplizierteren unter ihnen vor den einfacheren und praktischen zurücktreten mußten und daher nur dort in Anwendung blieben, wo sie, wie die Komplementbindung bei der Syphilis, unersetzlich waren.

Deswegen war es auch unter den Immunitätsreaktionen die Agglutination mit dem Immunserum, die es bei den Untersuchungen über Typhus und Paratyphus ermöglichte, sich rasch zu orientieren und praktische Schlüsse auf die geeignetste Form der Typhusschutzimpfung zu ziehen; beim Typhus und beim hämorrhagischen Ikterus hingegen sind die Versuche mit der Bakteriolyse und der Abtötung der Spirochäten, die an sich nur einer beschränkten Anwendung zugänglich sind, bloß zu rein wissenschaftlichen Zwecken brauchbar geblieben.

Auch die anaphylaktischen Reaktionen wurden zur Abwehr herangezogen; man verstand es nämlich, die erhöhte Gerinnungsfähigkeit, welche das Blut im Verlaufe der anaphylaktischen Erscheinungen aufweist, zu therapeutischen Zwecken zu steigern und so ein antihämorrhagisches Serum zu gewinnen.

Verschiedene Versuche.

Gegen die Wundinfektionen und die Kriegsverletzungen, bei denen der Gasbrand wütete, als ob er seinen besiegten anaeroben Verwandten, den Tetanus, rächen wollte, hat die Immunitätslehre ihr ganzes präventives und kuratives Rüstzeug in Bewegung gesetzt. Aber wegen der Mannigfaltigkeit der in Frage kommenden Keime und wegen der unlösbaren Verknüpfung der pathogenen Wirkungen, welche zugleich infektiös und toxisch sind, zeigten sich alle spezifischen oder immunisierenden Mittel, von den poly-

valenten Seris von Weinberg bis zu den Stomosinen von Centanni der vielgestaltigen Angriffskraft der kausalen Bazillenflora unterlegen.

Die Immunität, die in ihren Hilfsmitteln so wunderbar scheint, wenn sie es mit einer Infektion durch Keime konstanten Charakters, wie Tetanus, Cholera, Typhus, zu tun hat, kämpft mit großen und geradezu unüberwindlichen Schwierigkeiten, wenn es sich um ein infektiöses Agens handelt, das veränderliche Eigenschaften hat, wie der Streptokokkus oder gar um symbiotische Mikrobenfloren; bei Kämpfen mit gleichen Waffen erreichen die Sera und Impfstoffe gewöhnlich ihr Ziel, sie bleiben jedoch unwirksam oder brauchen Hilfsmittel wie die Polyvalenz oder die Steigerung der allgemeinen Widerstandsfähigkeit angerufen werden, wenn es sich um einen verdeckten und allzu beweglichen Gegner handelt.

Die spezifische Prophylaxe gegen die Streptokokkeninfektionen und den Gasbrand kämpft mit all diesen Schwierigkeiten; auch die Serotherapie der Meningitis cerebrospinalis und der Dysenterie hat darunter zu leiden.

Aber die Technik der Immunitätsforschung arbeitet ohne Unterlaß, um sie zu überwinden; die Herstellung der Sera und Impfstoffe geschieht mit den aus dem Krankheitsherd isolierten Keimen, und mit Hilfe der Autovakzinen kommt man schließlich so weit, den Kampf mit dem Bazillus selbst aufnehmen zu können, anstatt mit der Bazillenspezies.

In den Werkstätten, wo diese mächtigen Waffen gegen die Infektionskrankheiten geschmiedet werden, die den Widerstand gegen den Feind nicht weniger stärkten als die Munitionsfabriken, wurde eifrig gearbeitet, um die millionenfachen Dosen der Impfstoffe und Sera herzustellen, die zur wirksamen Bekämpfung der Cholera, des Typhus, des Tetanus nötig waren. Die Immunitätsforschung wurde aufgerufen, um die modernsten Kampfmittel gegen die schlimmsten Kriegsgeißeln zu erzeugen, und entsprach dem Rufe, indem sie diese so notwendige Kriegsindustrie improvisierte und sie in so überraschender Weise entwickelte, daß sie schließlich in wenigen Wochen Präparate herstellte, zu denen man früher viele Monate der Vorbereitung gebraucht hatte. Sie wußte eines der Wunder zu schaffen, die nur der angewandten Wissenschaft möglich sind; der wissenschaftlichen Forschung und ihren Aposteln verdankt es die

Immunitätslehre, daß sie ihre historische Stunde würdig bestand und weiterhin unermüdlich bleiben wird in ihren Anstrengungen, auch der bis nun refraktären Infektionen Herr zu werden; so zum Beispiel der Influenza, wobei trotz der Meinungsverschiedenheiten über ihre Ätiologie die spezifische Immunität mittels der polyvalenten Vakzine gegen die Mikrobengruppe der Erkrankung sich um die Wette mit der nicht spezifischen Therapie durch normales Serum oder Protein bemühte, dieser Krankheit, dem traurigen Epilog der Kriegsjahre, ihre Opfer zu entreißen.

Zweites Kapitel.

Die Ehrlichsche Theorie.

Antigene: Ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften: Proteide, Lipoide, Kolloide. — Unterscheidung von den Arzneien und Giften. — Physikalisches Verteilungsgesetz. — Die chemische Auffassung. — Grundlage der Ehrlichschen Theorie. — Haptophore und toxophore Gruppe. — Seitenketten oder Rezeptoren. — Weigertsches Gesetz. — Spezifität. — Bedeutung und Tragweite der Theorie. — Die Stomiten Centannis. — Einwendungen und Kritik. — Physikalisch-chemische Theorie von Nicolle — von Landsteiner — Traubes Theorie.

In dem kurzen und summarischen Überblick über die hauptsächlichsten Ergebnisse, den ich vorstehend zu geben versuchte, indem ich mich an die chronologische Entwicklung der Serologie hielt, konnten natürlich nur deren wichtigste Etappen flüchtig berührt werden, um das gedankliche Band, das sie zusammenhält, zeigen und den in Wirklichkeit recht heterogenen Stoff von einem einheitlichen Gesichtspunkt aus behandeln zu können. Bei unserem etwas eiligen Rundgang durch dieses Gebiet, das erst in den letzten Jahren erforscht und bearbeitet wurde, habe ich versucht, Sie mit den sprachlich originellen, aber treffenden Ausdrücken vertraut zu machen, deren Kenntnis Ihnen das Verständnis der Probleme, die uns weiterhin beschäftigen werden, erleichtern soll.

Wir haben in dem ersten Vortrag gesehen, daß die Immunitätsreaktionen hauptsächlich infolge des Reizes entstehen, den die Antigene auf den Organismus ausüben, worauf dieser mit der Produktion von Antagonisten, den Antikörpern antwortet. Die genaue Kenntnis dieser beiden Faktoren ist also eine unumgängliche Voraussetzung für jede serologische Untersuchung.

Antigene.

Antigene wurden von Detrè alle jene Substanzen genannt, welche imstande sind, die Bildung von Antikörpern im Organismus hervorzurufen; mit diesem allgemeinen Namen bezeichnet man in gleicher Weise Bakterien, Toxine, Zellen, Proteine, wofern nur ihre Einführung in den Organismus das Auftreten von Antikörpern zur Folge hat. Ihre Zusammenfassung zu einer Gruppe erfolgt ausschließlich mit Rücksicht auf die charakteristische Eigenschaft, den Organismus zur Produktion von Antikörpern anzuregen. Von keiner Substanz konnte man a priori sagen, ob sie mehr oder weniger als Antigen wirkt. Die Einreihung in diese Gruppe konnte erst auf Grund der experimentellen Untersuchung ihres biologischen Verhaltens erfolgen.

Ihr physikalisch-chemischer Charakter.

Wir haben gesehen, daß das antigene Vermögen bei vielen Stoffen tierischen und pflanzlichen Ursprungs gefunden wird, von denen einige giftig, andere aber ganz unschädlich sind. Sie stammen in letzter Linie alle vom Protoplasma ab, können aber nicht ganz allgemein einer der genauer charakterisierten Gruppen zugezählt werden, in die die wichtigsten Bestandteile des Zellplasmas eingeteilt zu werden pflegen; die einzige Behauptung, die hinsichtlich ihrer Natur aufgestellt werden kann, ist die, daß sie mit aller Wahrscheinlichkeit zur großen Gruppe der Kolloide gehören.

Viele Antigene, wie z. B. die Präzipitinogene, sind höchstwahrscheinlich Eiweißkörper. Das Antigen des Laktoserums, das man auf Milchinjektionen hin erhält, dürfte das Kasein der Milch sein, weil alle Agentien, die das Kasein angreifen, auch das antigene Vermögen der Milch zerstören. Ebenso wäre es bei den Präzipitinen für kristallisierte Eiweißkörper etwas erkünstelt, wenn man das antigene Vermögen den Verunreinigungen des Eiweißmoleküls zuschreiben wollte. Aber bei anderen Antigenen ist es ebenso schwer zu behaupten, daß sie Körper aus der Eiweißgruppe seien, wie es zu verneinen. Die Toxine z. B. wurden von Anfang an als Eiweißkörper (Toxalbumine) angesehen, weil sie alle für Proteine charakteristischen Reaktionen zeigten. In der Folge jedoch, als es gelang, Gifte darzustellen, die keine Eiweißreaktion mehr gaben, aber doch noch toxisch wirkten, glaubte man ihre Natur als Eiweißkörper bestreiten zu dürfen. Dieser negierende Schluß war ebensowenig gerechtfertigt, wie die frühere Zuteilung zu der Gruppe der Tox-

albumine. Das Vergleichen von chemischen und biologischen Reaktionen erscheint nämlich nicht statthaft, weil die Empfindlichkeit des Organismus für gewisse toxische Reize jener der feinsten chemischen Reagentien so weit überlegen ist, daß die toxische Wirkung noch besteht, wenn der chemische Nachweis schon lange versagt hat.

So sind z. B. beim Tetanustoxin zuweilen minimal kleine Dosen, Hunderttausendstel oder gar Millionstel Gramm, tödlich für Mäuse und es genügen noch stärkere Verdünnungen zur Auslösung von Krämpfen. Wenn wir von einem solchen Toxin derartig verdünnte, noch krankmachende Lösungen herstellen und sie mit den gewöhnlichen chemischen Eiweißreagentien prüfen, so lassen uns auch die feinsten unter ihnen im Stich. Die Biuretreaktion, die Millonsche Reaktion, ja selbst die Essigsäure-Ferrozyankaliprobe fallen alle negativ aus, ebenso wie sie auch bei echten Eiweißlösungen versagen, sobald deren Verdünnung eine gewisse Grenze (von 1 : 10.000 bis höchstens 1 : 100.000) überschreitet. Demnach ist es nicht angängig, ohneweiters auf die chemische Untersuchung allein hin die Eiweißnatur der stärksten Antigene zu behaupten oder auszuschließen. Unter diesem Gesichtspunkte bleibt die Frage ungelöst.

Zu demselben Schluß kommen wir, wenn wir die verschiedenen Argumente kritisch sichten, die zur Stütze der Auffassung vorgebracht werden, daß eine beträchtliche Gruppe von Antigenen zu den Lipoiden gehöre. Es mag wohl richtig sein, daß einige hinreichend als Lipoide charakterisierte Körper, so gewisse tierische und bakterielle Gifte, Anlaß zur Antikörperbildung geben. Bei anderen Antigenen hinwiederum, deren Lipoidcharakter auf Grund ihrer Löslichkeit in Alkohol, Äther und Benzol angenommen wurde, erscheint es sehr fraglich, ob mit dieser Löslichkeit die lipoide Natur genügend bewiesen ist, da ja auch gewisse Eiweißkörper (das Zeïn z. B.) in Alkohol ziemlich leicht löslich sind. Die Frage nach der chemischen Klassifizierung der Antigene ist also, wie ersichtlich, sogar für die Antigene, die löslich und in gewisser Hinsicht einer Analyse zugänglich sind, äußerst schwer zu beantworten. Die Schwierigkeiten werden aber erst recht unüberwindlich, wenn wir daran gehen, zu untersuchen, welche Substanzen dort als Antigene wirken, wo die Antikörperbildung an die unerschlossenen Bakterienkörper oder Zelleiber gebunden ist. Die chemische Klassi-

fizierung stößt also auf die größten Hindernisse. Wir können nur das eine ganz allgemein behaupten, daß die Antigene, mögen sie nun Eiweißkörper, Lipoide oder höhere Kohlehydrate sein, insgesamt in die große Gruppe der Kolloidsubstanzen gehören. Tatsächlich sind die Antigene, die chemisch genauer untersucht sind, wie das Hühnereiweiß, die Serumeiweißkörper, das Kasein Kolloide, und auch die Antigene, die bisher einer gründlichen Analyse unzugänglich waren, weisen das Verhalten der Kolloide auf, d. h. sie bilden keine wirklichen, echten Lösungen, sondern vielmehr opaleszierende Suspensionen, sie zeigen keine Gefrierpunktserniedrigung ihres Lösungsmittels und keine Erhöhung des Siedepunkts, sie diffundieren nicht durch tierische Membranen und sind sehr unbeständig und empfindlich gegen die Einwirkung des Lichtes, der Wärme, der chemischen und physikalischen Agentien überhaupt.

Physikalische Wirkungsweise der Arzneimittel.

Eben dieses kolloidartige Verhalten nun, das bei den Antigenen ganz allgemein vorgefunden wird, erklärt uns viele Eigentümlichkeiten ihrer biologischen Wirkungsweise. Der Kolloidcharakter gestattet nämlich eine ganz scharfe Unterscheidung zwischen ihnen und den gewöhnlichen, chemisch charakterisierbaren Arzneien und Giften. Letztere, z. B. die Alkaloide, die mineralischen Gifte sind kristalloide, in Wasser vollständig lösliche, leicht diffundierbare Stoffe; durch diese Eigenschaften differenzieren sie sich physikalisch-chemisch von den Antigenen, ebenso wie sie sich biologisch von ihnen durch die Unfähigkeit unterscheiden, spezifische Immunitätsreaktionen hervorzurufen. Denn alle diese Kristalloide, auch wenn sie eine große biologische Wirksamkeit und eine starke Toxizität besitzen, sind in keiner Weise imstande, eine wirkliche, echte Immunität zu erzeugen, sondern sind höchstens befähigt, nach fortgesetzter Verabreichung in bestimmten Fällen eine erhöhte Widerstandskraft des Organismus ihnen gegenüber zu schaffen.

Aber während diese Resistenzerhöhung bei der Immunität regelmäßig mit dem Auftreten antagonistischer Stoffe im Blutserum, in den Körpersäften, in den Organen der vorbehandelten Organismen einhergeht, bleibt bei der Gewöhnung an die kristalloiden Gifte jede Antikörperbildung vollständig aus.

Der eben hervorgehobene Gegensatz im physikalisch-chemischen Verhalten der gewöhnlichen Gifte und der Antigene macht es uns verständlich, warum die Reaktion bei ersteren fehlt

und in welcher Weise sie bei den biologisch wirksamen kolloiden Stoffen protoplasmatischer Herkunft zustande kommt.

Wenn wir uns nämlich fragen, wie die Wirkungen der beiden Gruppen von Agentien auf den Organismus zu erklären sind, so lautet die Antwort, daß das Grundgesetz, das die Wirkung der nicht als Antigene wirksamen Kristalloide beherrscht, das Verteilungsgesetz ist. Das heißt: wenn diese Stoffe in den Körper eingeführt werden, so verteilen sie sich ungleichmäßig; ihre Anhäufung in den verschiedenen Organen und Geweben ist stärker oder geringer, je nachdem sie dort mehr oder weniger geeignete Lösungsmittel vorfinden.

Das klassische Beispiel für dieses Verhalten und für die entsprechende Wirkung bieten uns die Untersuchungen, welche zur Begründung der modernen Theorie der Narkose von Meyer und Overton ausgeführt wurden, denen zufolge die Wirkung der Narkotika, wie des Chloroforms, des Alkohols, des Chlorals in direkter Beziehung zu ihrer Löslichkeit in Fetten und Lipoiden steht, die größer ist als die in wässerigen Medien. Wo diese Narkotika, sowohl in vitro wie auch in vivo mit besseren Lösungsmitteln — Fetten oder Lipoiden — in Berührung kommen, verlassen sie die wässerige Lösung, um sich in den Lipoiden anzusammeln. Der Grund, warum sie von seiten des Nervensystems elektiv fixiert werden, liegt daher ausschließlich darin, daß sie in den lipoiden Substanzen, dem Hauptbestandteil des Zentralnervensystems, besser löslich sind als im Blut. Tatsächlich ist auch der narkotische Effekt um so deutlicher zu beobachten, je ausgesprochener ihre Löslichkeit in dem lipoiden Lösungsmittel ist.

Die Wirkung der kristalloiden Gifte und Narkotika ist also von dem physikalischen Faktor ihrer Löslichkeit und dem damit zusammenhängenden Verteilungsgesetz deutlich abhängig. In ähnlicher Weise dürfte die Wirkung eines großen Teiles der Gifte von bekannter chemischer Konstitution zu erklären sein. Auch die therapeutische Wirkung gewisser Arzneimittel, so z. B. die des in neuerer Zeit bei der Leukämie mit Erfolg verwendeten Benzols, scheint mit ihrer Lipoidlöslichkeit zusammenzuhängen.

Chemische Bindung der Antigene.

Bei den Antigenen hingegen ist der Wirkungsmechanismus ein ganz anderer. Nehmen wir z. B. das Tetanustoxin. Wenn dieses in den Kreislauf eingeführt wird, so verläßt es ebenfalls

früher oder später das Blut. Es setzt sich ebenso wie das Narkotikum im Nervensystem fest. Diese elektive Bindung kann man auch in vitro bewerkstelligen, wenn man in der Eprouvette eine Lösung von Tetanustoxin mit einer Emulsion von Hirnsubstanz eines gegen diese Giftwirkung empfindlichen Tieres zusammenbringt. Aber diese Absorptionsvorgänge stehen in keinem Zusammenhang mit Vorgängen der physikalischen Löslichkeit in den Lipoiden, sondern sie sind einer wirklichen und echten chemischen Reaktion zwischen der Hirnsubstanz und dem Toxin zuzuschreiben. Die Extraktionsmittel nämlich, die sich in ausgezeichneter Weise dazu eignen, die einfach in den Lipoiden gelösten Narkotika wiederzugewinnen, sind unfähig, das Toxin von dem Nervengewebe zu trennen. Zum Unterschied von den Narkotizis, die, wenn sie in der Nervensuspension gelöst sind, ihre pharmakologische Wirkung beibehalten, erweisen sich die von der Hirnsubstanz gebundenen Toxine als gänzlich inaktiv. Die Hirnemulsion, die ein Vielfaches der letalen Dosis von Tetanustoxin enthält, kann empfindlichen Tieren ohne Schaden eingespritzt werden; die Toxinwirkung ist vollständig aufgehoben. Das Toxin ist sozusagen neutralisiert. Es bestehen also bezüglich ihrer Wechselwirkung gegenüber dem Nervengewebe zwischen Toxin und Narkotikum wesentliche Unterschiede. Während das Verhalten des letzteren sich durch seine Löslichkeit und Diffundierbarkeit erklärt, kann man im ersteren Fall solche physikalische Vorgänge nicht in Betracht ziehen, sondern muß zur Aufklärung vielmehr chemische Affinitäten und Reaktionen heranziehen.

Tatsächlich sehen wir gerade bei den chemischen Reaktionen Vorgänge, die mit den bei der Wechselwirkung zwischen dem Tetanustoxin und dem Nervengewebe angeführten die größte Analogie aufweisen.

Wenn wir nämlich zwei Substanzen miteinander zusammenbringen, die chemische Affinitäten zueinander besitzen, so verschwinden die charakteristischen Eigenschaften der beiden aktiven Substanzen; es verschwinden z. B. die sauren Eigenschaften der Säuren, die kaustischen der Basen in dem Säure-Alkaligemisch. In derselben Weise verliert das Tetanustoxin, mit Hirnpulpa zusammengebracht, seine charakteristischen toxischen Eigenschaften und gleichzeitig wird in gleichem Maße der Hirnpulpa ihre Fähigkeit, weiteres Tetanusgift zu neutralisieren,

entzogen. Und überdies ist, so wie bei allen anderen chemischen Reaktionen, diese Wechselwirkung in charakteristischer Weise spezifisch und elektiv; sie findet dort statt, wo Tetanustoxin und Nervensubstanz von tetanusempfindlichen Tieren miteinander zusammengebracht werden, und umgekehrt fehlt sie, wenn das Toxin sich mit der Nervensubstanz von Tieren vereinigt, die von Natur aus refraktär sind (Eidechse, Schildkröte), gerade so, als ob die Wirkung nicht einträte, weil jene Anziehungskraft fehlt oder wenig ausgesprochen ist, die beim empfindlichen Tier das Toxin an die Nervensubstanz bindet. Wie man dort, wo eine chemische Reaktion stattfindet, die Stoffe, die aufeinander eingewirkt haben, nicht unterscheiden oder durch physikalische Vorgänge trennen kann, ebensowenig kann die Trennung des Toxins von seiner Suspension in der Hirnpulpa mit einfachen physikalischen Mitteln vorgenommen werden. Ganz analog wie die chemischen Reaktionen nach quantitativen Gesetzen vor sich gehen, die konstante Proportionen zwischen den sich verbindenden Elementen voraussetzen, vermag eine bestimmte Quantität Hirnpulpa bloß eine gewisse, genau bestimmbare Menge Tetanusgift zu neutralisieren.

Die Übereinstimmung zwischen chemischen Reaktionen und toxischen und antitoxischen Prozessen ist also sicher eine ganz auffallende; es handelt sich auch nicht um rein oberflächliche Ähnlichkeiten, denn ihre Analogie wird um so deutlicher, je weiter man in ihr Wesen eindringt. So konnten Behring und Ehrlich von Anfang an zeigen, daß zur Neutralisierung von Vielfachen der letalen Toxindosis genau entsprechende Vielfache des Antitoxins benötigt werden.

Haptophore Gruppe.

Diese Auffassung einer chemischen Bindung der Toxine ist die Grundlage der Ehrlichschen Theorie. Diese nimmt an, daß das Toxin eine Molekulargruppe besitzt, die imstande ist, chemisch mit irgendeiner Gruppe des Zellprotoplasmas zu reagieren. Diese Gruppe des Toxins, die eine chemische Affinität für die gegen das Toxin empfindlichen Gewebe besitzt, wurde haptophor genannt, weil an sie die Fähigkeit des Toxins gebunden ist, am Zellprotoplasma zu haften. Neben dieser Gruppe nahm Ehrlich bei den Toxinen die Existenz einer anderen, von der haptophoren verschiedenen an, die er toxophor nannte, weil an sie die toxische Wirkung gebunden ist (Fig. 2, Seite 42).

Ehrlichsche Theorie.

Antigene.

Toxin { Toxophore Gruppe / Haptophore Gruppe



Toxoid
(nur eine haptophore
Gruppe)



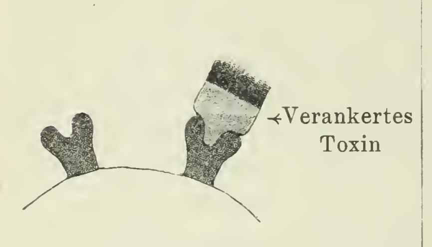
Agglutinogen
(Bakterium)

Präzipitinogen
(Protein)





Sessile Rezeptoren.



Zelle mit Rezeptoren
1. Ordnung



Zelle mit Rezeptoren
2. Ordnung

Freie Rezeptoren.

Haptophore
Gruppe allein



Antitoxin

1. Ordnung

Hapto-
phore
Gruppe

Zymophore
Gruppe

Agglutinin-Präzipitin **Agglutinoid**

2. Ordnung

Reaktionen.



Neutralisation



Agglutination-Präzipitation



Neutralisation

Fig. 2.

Die Notwendigkeit, zwei scharf unterschiedene Gruppen, die haptophore und die toxophore anzunehmen, beruht darauf, daß die erstere, die die Ursache der chemischen Affinität mit den sensiblen Zellen ist, unverändert bestehen bleibt, wenn die von der zweiten ausgehende toxische Wirkung schon stark abgeschwächt oder auch ganz verschwunden ist. Das verschiedene Verhalten des Bindungsvermögens, das eine ganz konstante und unveränderliche Größe darstellt, während die Toxizität eine fortschreitende Abschwächung erfährt, konnte in der Tat nicht anders erklärt werden, als indem man die toxische Wirkung einem Molekularkomplex zuschrieb, der von dem zur Verankerung an die Zellen dienenden verschieden war. Diese scharfe Trennung der haptophoren Gruppe von der toxophoren hat einerseits dazu beigetragen, den Mechanismus der Toxinwirkung zu erklären, andererseits aber auch Ehrlichs Annahmen — die sich ursprünglich nur auf die Toxine bezogen — auf die antigenen Körper auszudehnen erlaubt, denen die toxophore Gruppe fehlt. Die Bindung des Antigens an die Zellen erfolgt nach Ehrlich ausschließlich durch die haptophore Gruppe, die mittels eines chemischen Prozesses sich mit einem entsprechenden ebenfalls haptophoren, in den Zellen selbst vorhandenen Molekularkomplex verbindet. Das antigene Vermögen ist eben an diese haptophore Gruppe gebunden, und zwar nur an diese und ist von den sonstigen — toxischen oder nicht toxischen — Molekularkomplexen der Antigene vollständig unabhängig.

Seitenketten oder Rezeptoren.

Ehrlichs zugleich paradoxe und geniale Auffassung, daß das Toxin nicht immunisiert insofern es toxisch wirkt, sondern soweit es imstande ist, sich mit bestimmten Molekulargruppen der Zellen zu verbinden, stimmte übrigens vollkommen überein mit der Seitenkettentheorie, die von demselben Gelehrten aufgestellt worden war, bevor die experimentellen Untersuchungen ihn instand setzten, sie mit einer Fülle von Tatsachenmaterial und Belegen zu stützen.

Die Theorie, die Ehrlichs Namen führt, hat als Ausgangspunkt die von diesem Forscher vor mehr als dreißig Jahren aufgestellte Hypothese, daß das Protoplasma einer jeden lebenden Zelle aus einem Kern von Atomkomplexen besteht, die die spezifischen Zellfunktionen ausüben — diesen nennt er „Leistungskern“ — und aus zahlreichen Molekulargruppen, die bestimmt sind, die Nährsubstanzen anzuziehen und aufzu-

speichern. Diesen hypothetischen Gruppen gab er die Bezeichnung „Seitenketten", indem er die Terminologie der modernen Chemie anwandte. Die Seitenketten oder Rezeptoren, wie sie später genannt wurden, erfüllen unter physiologischen Bedingungen die Aufgabe, die Nahrungsmittel zu assimilieren, aber nicht, indem sie sie einfach auf physikalischem Wege im Protoplasma auflösen, sondern indem sie sie mittels chemischer Affinitäten so innig binden, daß kein Lösungsmittel mehr imstande ist, sie zu extrahieren, sondern dazu die Spaltung der Verbindung notwendig ist, wie sie z. B. durch Mineralsäuren bewerkstelligt wird. Die Seitenketten sind jedoch befähigt, auch andere Stoffe außer den Nahrungsmitteln anzuziehen, wenn diese einen Atomkomplex enthalten, der eine spezifische chemische Affinität zu den Rezeptoren besitzt; mit anderen Worten, wenn sie mit einer haptophoren Gruppe versehen sind. Nach Ehrlich erfolgt die Aufnahme, die Assimilierung sowohl der Nahrungsmittel als auch der antigenen Toxine durch Vermittlung solcher haptophorer Gruppen, indem diese in den Seitenketten die mit den zur Bindung erforderlichen Affinitäten versehenen Molekularkomplexe finden. In dieser Beleuchtung läßt sich der Prozeß der Aufnahme des Tetanustoxins vonseiten der Hirnsubstanz einfach als eine Reaktion zwischen der haptophoren Gruppe des Toxins und gewissen Seitenketten oder Rezeptoren des Nervengewebes auffassen.

Aber während bei den Nährstoffen der Verankerung die Spaltung und Verbrennung auf dem Fuße folgt, durch die die Rezeptoren sich ihrer rasch entledigen, kann die Zelle mit den Toxinen, die etwa unverdaulichen Nährstoffen gleichen, nicht mit derselben Leichtigkeit fertig werden, die an der Toxinbildung beteiligten Seitenketten können ihre gewöhnliche Funktion, die Nährstoffe herbeizuschaffen, nicht ausüben. Unter diesen Umständen muß die Zelle, um den normalerweise an sie gestellten Forderungen gerecht zu werden, neue Rezeptoren bilden, zum Ersatz für die vom Toxin in Anspruch genommenen, die vom funktionellen Standpunkt aus lahmgelegt sind. Diese Art von Regenerationsprozeß bleibt nun nach einem allgemeinen, von

Weigertsches Gesetz.

Weigert aufgestellten Gesetz nicht bei einem einfachen Ersatz, einer bloßen Wiederherstellung des Fehlenden stehen, sondern führt zu einer Überproduktion, einer Hyperregeneration der Seitenketten. Wenn daher die Injektionen stets steigender Dosen

von Toxin wiederholt werden, wie man das eben im Verlauf der Immunisierung gegen Tetanus und Diphtherie zu machen pflegt, so werden die funktionellen Verluste, die daraus erfolgen, nach und nach wieder ersetzt, die Zelle wird zur ausschließlichen und übermächtigen Produktion solcher Seitenketten angeregt, die auf das Toxin abgestimmt sind. Schließlich wächst die Anzahl der sessilen, d. h. an der Zelle sitzenden Rezeptoren so an, daß sie übermäßig und ihr schädlich werden, dergestalt, daß letztere sich ihrer entledigt, indem sie einen Teil dieser neugebildeten Gruppen an das Blut abgibt. Dies geschieht in der Form einer inneren Sekretion in den Kreislauf. Die einfacheren Seitenketten (oder Rezeptoren erster Ordnung, d. h. die mit einer einzigen haptophoren Gruppe versehenen), die derart frei werden und ins Blut übergehen, bilden eben die Antitoxine; die komplizierteren (oder Rezeptoren zweiter Ordnung, d. h. die außer mit einer haptophoren noch mit einer agglutinierenden oder präzipitierenden zymophoren Gruppe versehenen) stellen die Agglutinine und Präzipitine dar. Dank ihrem Ursprung enthalten also die Antitoxine eine mit speziellen Affinitäten für das Toxin versehene Atomgruppe, die imstande ist, dieses von den Organen und empfindlichen Geweben abzulenken.

Spezifität

Diese Erklärung benimmt den bei der Entstehung der Antitoxine beobachteten Vorgängen ihren eigentümlichen und fast wunderbaren Charakter. Erstens wird dadurch die spezifische Wirkung des Antitoxins erklärt; es wird nämlich verständlich, warum das von einem bestimmten Gift produzierte Antitoxin sich nur gegen dieses selbe Gift wirksam zeigt und gegen alle anderen Toxine unwirksam ist. Das Verhältnis zwischen Toxin und Antitoxin ist in der Tat ein so eigentümliches und inniges, daß Behring mit Recht von dem Antitoxin im Diphtherieheilserum sagen konnte, daß es mit nichts anderem auf der Welt zu tun habe als mit dem Diphtheriegift. Bevor die Ehrlichsche Theorie allgemein akzeptiert wurde, hatte man infolge der strengen Spezifität sogar an eine direkte Abstammung gedacht, und zwar in dem Sinne, daß das Toxin die Muttersubstanz des Antitoxins sei. Diese Ansicht stand jedoch im Widerspruch zu dem außerordentlichen Mißverhältnis zwischen der Quantität des eingeführten Toxins und der des erzeugten Antitoxins; denn nach Einführung einer Toxineinheit traten im Serum Zehn- und Hunderttausende von Antitoxineinheiten auf. Die Hypothese der

direkten Abstammung des Antitoxins von Toxin wurde ferner von der Tatsache umgestoßen, daß das Antitoxin, z. B. das Diphtherieantitoxin, auch im Blute gesunder Pferde, denen nie Toxin eingespritzt worden war, wenn auch in geringer Menge vorhanden ist; da aber das Pferd gegen Diphtherie unempfänglich ist, hatte es sich auch nicht durch den Krankheitsprozeß bilden können. Dieser Befund stimmt hingegen sehr gut mit der Ehrlichschen Hypothese überein, welche die Antitoxine zu einem normalen Produkte der Zelltätigkeit macht; er beweist also nur, daß schon unter normalen Bedingungen im Kreislauf sich vom Zellkomplex getrennte Rezeptoren befinden können. Im Verlauf der Immunisierung jedoch nehmen die freien Rezeptoren im Serum zu, weil infolge der methodischen Einführung von steigenden Toxindosen die Neubildung der Rezeptoren angeregt und ihre Ablösung von den Zellen mit darauffolgendem Übertritt in den Kreislauf gefördert wird.

Die Ehrlichsche Hypothese erklärt auch den Unterschied zwischen aktiver und passiver Immunität, der unverständlich wäre, wenn die Antitoxine direkt von den Toxinen abstammen würden. Wenn man nämlich mit Ehrlich annimmt, daß die Antitoxine Reaktionsprodukte des immunisierten Organismus darstellen, so ist es nicht bloß erklärlich, daß die aktive Immunität durch sekretorische Reize gesteigert werden kann, sondern man versteht den großen Unterschied zwischen der aktiven und passiven Immunisierung, da erstere ihrer Entstehungsweise entsprechend notwendig von zellulären Veränderungen begleitet ist, welche bei der letzteren fehlen.

Bedeutung und Tragweite der Theorie.

Der überzeugendste Teil der Ehrlichschen Auffassung ist der, welcher die Identität der sessilen zellulären Rezeptoren, die zur Bindung des Toxins dienen, mit jenen behauptet, die ins Blut ergossen werden und darin frei kreisend dessen antitoxische Wirkung hervorrufen. Dieselbe Substanz kann demnach, so lange sie an die Zelle gebunden ist, wegen ihrer Affinität zu dem Toxin zur Übertragung der toxischen Wirkung auf die Zelle dienen, vermag aber auch, in den Kreislauf gebracht, dadurch, daß sie ihre Affinität zu dem Toxin bewahrt, dieses zu binden und von den Zellen abzulenken, von denen sie jetzt losgelöst ist. Das ist eine wegen ihrer Natürlichkeit und Einfachheit wirklich überzeugende Hypothese.

Was freilich seltsam erscheinen mag, ist die Gleichstellung der Toxine mit den eigentlichen Nährstoffen. Dabei ist aber zu

erwägen, daß die Toxizität der Gifte, wie schon erwähnt, nicht demselben Atomkomplex angehört, der der Bindung dient, denn die bindenden Eigenschaften sind der haptophoren Gruppe zuzuschreiben, die toxischen der toxophoren Gruppe. Die Bildung der Antitoxine ist ganz unabhängig von der Wirkung der toxophoren Elemente, so daß man Antitoxine mit Giften erzeugen kann, die keine schädliche Wirkung mehr ausüben. Bei den so modifizierten Produkten, den Toxoiden, ist die toxophore Gruppe vollständig zerstört, während die haptophore Gruppe, die die Bildung der Immunkörper veranlaßt, unversehrt erhalten ist. Noch plausibler aber wird die Hypothese, wenn wir sie auf die anderen bekannten antigenen Substanzen anwenden; viele unter ihnen sind vollständig unschädlich, haben also keinerlei toxophore Gruppe, trotzdem erfolgt auf ihre Einverleibung dieselbe Produktion von Antikörpern. Und da sich unter ihnen auch Nährstoffe befinden, wie die Eiweißkörper, muß man zugeben, daß Ehrlich bei der Aufstellung seiner Theorie von einer wahren Divinationsgabe geleitet war, weil er mit prophetischem Blick jene Tatsachen voraussah, die dann im Laufe der Zeit die Richtigkeit seiner Auffassung bestätigen sollten.

Stomiten von Centanni.

An dieser Stelle wollen wir erwähnen, ohne daß unseres Erachtens das Verdienst Ehrlichs im geringsten geschmälert wird, daß schon vor ihm ein italienischer Forscher, Centanni, im Jahre 1893 als erster die Hypothese aufgestellt hatte, daß die elektive Absorption von seiten der Zellen durch Vermittlung an ihrer Peripherie gelegener und mit Affinität zur absorbierten Substanz versehener Moleküle stattfinde; diesen Molekülen, die also den Rezeptoren Ehrlichs entsprechen, hatte Centanni die Bezeichnung „Stomiten“ gegeben und er erblickte ebenfalls in ihrer Sättigung mittels indifferenter, nicht toxischer Gruppen das wesentliche Moment für das Zustandekommen der Immunitätsvorgänge.

Einwände und kritische Bemerkungen.

Wir haben somit das Wesen und die Bedeutung der Seitenkettentheorie in kurzen Zügen entwickelt. Nun müssen wir aber auch erwähnen, daß sie, wie übrigens alle Theorien in den exakten Wissenschaften, Chemie und Physik, wie z. B. auch die Atomtheorie, von willkürlichen Voraussetzungen ausgeht, welche jedoch in ausgezeichneter Weise dazu dienen, eine ganze Reihe von Phänomenen verständlich zu machen. Dadurch bekommen diese Erscheinungen einen gewissen inneren Zusammenhang und läßt sich

auch ein synthetischer Überblick der erhaltenen Resultate gewinnen, der die Auffindung neuer Tatsachen erleichtert. Wie das von Mendelejew auf Grund der Atomtheorie ausgearbeitete System dazu diente, die Existenz einiger Elemente vorauszusagen, die erst später entdeckt wurden, so hatte auch Ehrlichs System der Rezeptoren einen heuristischen Wert, indem es viele Befunde voraussehen ließ, die erst in der Folge experimentell begründet oder an der Hand der Theorie entdeckt wurden. Wie jedoch heute die Existenz der Elemente in Zweifel gezogen wird und es nicht an Versuchen fehlt, die Atomtheorie umzustoßen, so kann man auch den Rezeptoren nur einen symbolischen Wert zuerkennen und die Ehrlichsche Theorie kann nicht als unbestreitbares Dogma hingestellt werden. Es hat auch nicht an Angriffen gefehlt, die speziell die Identität der haptophoren (antigenen) Gruppe mit der an der Neutralisierung beteiligten bestritten; aber es ließ sich kein einziges entscheidendes Argument finden, das die Ehrlichsche Annahme umstürzen könnte, da bisher keine Tatsache angeführt werden konnte, die nicht früher oder später von Ehrlich selbst oder seinen Schülern mit der Theorie in Einklang gebracht wurde oder sogar als eine Stütze für sie ausgelegt werden konnte.

Viele gegen die Ehrlichsche Theorie vorgebrachte Einwände hat die Zeit entkräftet, mehrere andere wurden durch den übertriebenen Eifer der Anhänger Ehrlichs veranlaßt; bei diesen werde ich mich nicht aufhalten, weil sie nur einige Details betreffen und den Kern der Ehrlichschen Auffassung nicht berühren.

Einige verdienen jedoch unsere Aufmerksamkeit, weil sie, obwohl sie die Seitenkettentheorie nicht umzustürzen vermögen, uns davor bewahren, ihr eine übertriebene Bedeutung zuzuschreiben, als ob man mit ihr ohneweiters alle Immunitätserscheinungen erklären könne. Wir müssen vor allem betonen, daß die Erzeugung von Antikörpern nicht die einzige Waffe ist, über die der Organismus verfügt; es kann auch Immunität eintreten, ohne daß sich Antikörper bilden, und zwar durch besondere Anpassung der Zellen, z. B. als Folgen des Verschwindens der Rezeptoren; diese Form der Immunität, die in den Zellen und Geweben selbst sitzt, wurde histogene genannt. In anderen Fällen hat die Einführung von Antigenen die Wirkung, den der Behandlung unterworfenen Organismus anstatt widerstandsfähig,

sogar empfindlicher zu machen, während, wenigstens dem Anschein nach, die Antikörperbildung fehlt; ja diese Überempfindlichkeit kann selbst dort bestehen, wo sich im Serum Antikörper vorfinden. Diese Einwände scheinen natürlich auf den ersten Blick mit dem von Ehrlich angenommenen Mechanismus unvereinbar zu sein, so daß er selbst zugibt, gerade mit Hinblick auf diese Fälle bei der Aufstellung seiner Theorie geschwankt zu haben.

Aber auch diese Einwendungen hielten einer nüchternen Kritik nicht stand, sondern führten nur dazu, auf einige Seiten des Problems näher einzugehen. Wenn wir den Mechanismus der Antitoxinproduktion nach der Ehrlichschen Theorie analysieren, können wir in seiner Entstehung drei Stadien unterscheiden, und zwar 1. die Bindung des Antigens, 2. die Neubildung von Rezeptoren, 3. die Sekretion, d. h. ihren Übergang in den Kreislauf. Bei einigen von Bruck untersuchten Fällen entwickelten sich zwar infolge der Einführung abgeschwächten Tetanusgiftes die erste und zweite Phase regelmäßig, die dritte kam aber nicht zustande, so daß die neugebildeten Rezeptoren, anstatt in den Kreislauf überzugehen, an die Zelle gebunden blieben, wodurch eine größere Aufnahmsfähigkeit für das Gift eintrat; das heißt eine Überempfindlichkeit anstatt der Widerstandsfähigkeit, die erst nach der Abspaltung der Rezeptoren erreicht wird. Wenn auch die Kenntnis dieser Tatsachen dazu führte, die Notwendigkeit eines besonderen Reizes zur Loslösung der Rezeptoren anzunehmen, macht sie doch solche paradoxe Phänomene verständlich, die sich anfangs mit der Theorie nicht in Einklang bringen ließen.

Selbst die bei Tieren, deren Blut freie Rezeptoren enthält, gefundene Überempfindlichkeit steht nicht in absolutem Widerspruch mit der Ehrlichschen Theorie, sondern kann durch die Hyperregeneration und die größere Avidität der sessilen, d. h. an der Zelle sitzenden Rezeptoren gegenüber den frei zirkulierenden erklärt werden, oder auch durch eine Trennung der Verbindung zwischen Toxin und Antitoxin, die, wenn sie in vitro mittels kräftiger Reagentien, wie die Säuren zu erzielen ist, wie wir ja erwähnt haben, doch gewiß auch in vivo eintreten kann. Es ist nicht gesagt, daß solche Auslegungen notwendigerweise die einzig richtigen sein müssen, aber sie gestatten, Tatsachen mit dem Ehrlichschen Schema in Ein-

klang zu bringen, die mit ihm in schreiendem Widerspruch zu stehen schienen.

Bang und Forssman

Zu den ernstesten Einwänden gehören jedoch sicherlich die von Bang und Forssman vorgebrachten. Diese Autoren wurden durch ihre Untersuchungen zu der Annahme geführt, daß die antigene und die neutralisierende Funktion der roten Blutkörperchen an verschiedene Substrate gebunden sei, die sich durch ihr verschiedenes physikalisch-chemisches Verhalten genau differenzieren lassen. Sie leugnen deswegen die Einheitlichkeit der haptophoren Gruppe, während gerade die Identität der Komponente, die die Antikörperbildung hervorruft, mit der, die mit dem Antikörper reagiert und denselben neutralisiert, eine der Grundlagen der Ehrlichschen Theorie bildet. Es gelang nämlich diesen Autoren, durch Injektion von ätherischen Extrakten roter Blutkörperchen hämolytische Sera darzustellen, obwohl an den Extrakten das Bindungsvermögen für das gebildete Hämolysin vermißt wurde, und sie meinten, auf diesem Wege die mit dem Neutralisierungsvermögen gegenüber dem Hämolysin begabte Molekulargruppe von der antigenen getrennt zu haben, was einer Zweiteilung der haptophoren Gruppe gleichkäme. Diese Annahme schien noch dadurch bestätigt zu werden, daß bei Behandlung des Benzolextraktes der Erythrozyten mit Azeton das antigene Vermögen bloß im Niederschlag, die Hämolysin sättigende Wirkung hingegen in der Lösung vorgefunden wurde. Diese Resultate wirkten auf den ersten Blick in der von Bang und Forssman gegebenen Erklärung so überzeugend, daß die Annahme einer einheitlichen haptophoren Gruppe erschüttert schien, und mußten auch auf die wärmsten Anhänger der Ehrlichschen Theorie Eindruck machen. Glücklicherweise konnten selbst diese Einwände von dem genialen Frankfurter Pathologen erfolgreich zurückgewiesen werden. Ehrlich zeigte in einer überaus genauen Analyse der angeführten Versuche, daß man mit dem Bangschen Verfahren nur eine äußerst schwache Immunisierung erzielt, die so minimalen Spuren von Antigenen zuzuschreiben ist, daß sie in vivo nur schwer mehr nachweisbar sind, bei der minder empfindlichen Versuchsanordnung in vitro aber ganz übersehen werden müssen. Er konnte mit mathematischer Exaktheit beweisen, daß die von Bang und Forssman geforderte Zweiteilung nicht bloß ungerechtfertigt, sondern auch ganz unbegründet ist. Schon die Ver-

schiedenheit der angewendeten Reaktionen — in einem Fall der Organismus für das antigene Vermögen, im anderen Fall die Eprouvette für den Neutralisationsversuch — wodurch die beiden Funktionen getrennt werden sollten, ist nach unseren Ausführungen an anderer Stelle ja mehr als genügend, um die erhaltenen Resultate zu erklären. Ebensowenig ist die Neutralisierung des Hämolysins, die Bang dort beobachtet hatte, wo das antigene Vermögen fehlte, ausreichend — wie Ehrlich ausdrücklich bemerkt — um eine neutralisierende, von der haptophoren verschiedene Gruppe anzunehmen, da es zweifelhaft ist, ob eine echte, wirkliche Sättigung des Antikörpers vorlag oder ob es sich nicht eher um interkurrente Faktoren handelte, die nichts mit der Neutralisierung des Hämolysins zu tun hatten. Der Versuch, die beiden Funktionen voneinander zu trennen, kann also als gescheitert betrachtet werden, obwohl Forssman den Angriff gegen die Ehrlichsche Theorie wiederholte; er behauptete nämlich, die Verschiedenheit des antigenen Elementes von dem, das sich mit dem Antikörper verbindet, sei bewiesen, da es ihm gelungen war, ein hämolytisches Serum für Hammelblut durch Einspritzung einer Emulsion aus Meerschweinchenorganen herzustellen.

Die von Ehrlich angenommene Identität der antigenen Gruppe mit der, die sich mit dem Antikörper verbindet, ist vielmehr von einer ganzen Reihe von Versuchen bestätigt worden. Unter ihnen will ich die von v. Dungern hervorheben, die zeigen, wie die Sättigung des Antigens mit dem Antikörper seine antigene Fähigkeit verringert. Die Injektion einer neutralen Mischung von Toxin und Antitoxin ruft in der Tat nicht dieselbe Produktion von Antikörpern hervor, wie das Toxin allein, ebenso entwickeln die agglutinierten, d. h. mit Antikörpern beladenen Bazillen und die sensibilisierten, d. h. mit Hämolysin gesättigten roten Blutkörperchen keine oder doch nur eine äußerst geringe antigene Wirkung.

Diese Versuche beweisen in Übereinstimmung mit einer ganzen Reihe von experimentellen Befunden der Ehrlichschen Schule den vollkommenen Parallelismus zwischen den beiden Funktionen, der antigenen und der neutralisierenden, und sprechen dafür, daß beide wirklich einer einheitlichen Gruppe, der haptophoren, zuzuschreiben sind.

Gerade die Untersuchungen von Forssman, welche die Ehrlichsche Theorie umstürzen wollten, beweisen wiederum

nicht nur deren Richtigkeit, sondern auch den heuristischen Wert, welcher sogar durch Anregung zum Widerspruch zur Entdeckung höchst interessanter Tatsachen geführt hat. Wir wollen eine davon hier anführen. Ein Hauptpfeiler der Immunitätslehre ist, wie wir oben ausgeführt haben, die streng spezifische Anpassung des jeweiligen Antikörpers an das seine Bildung auslösende Antigen. Daher werden die verschiedenen Antikörper mittels der entsprechenden Antigene hergestellt; so wird z. B. das Diphtherieheilserum durch Behandlung der serumliefernden Tiere mit Diphtherietoxin gewonnen, Hammelbluthämolysin durch parenterale Einführung von Hammelblut usf. Nach der Ehrlichschen Theorie erklärt sich dies einfach so, daß die antigene haptophore Gruppe, welche zur Neubildung und Abstoßung der passenden Rezeptoren, welche nach ihrer Abstoßung als Antikörper fungieren, führt, in dem jeweiligen Antigen in ausgiebigem Maße und reichlicher als anderswo enthalten ist. Forssman konnte nun im Laufe seiner Untersuchungen zeigen, daß beim Kaninchen ein Hämolysin für Hammelblut nicht nur durch die Injektion von Hammelblut, sondern auch durch Vorbehandlung mit Meerschweinchen-, Katzen- und Pferdenieren, ja sogar mit Pferdeharn entsteht. Dieser merkwürdige Befund schien zunächst mit dem Axiom der Spezifität der Antigen-Antikörperreaktionen schwer vereinbar zu sein und wurde von Forssman als Argument gegen die Ehrlichsche Theorie ins Feld geführt. Es ist auch nicht zu leugnen, daß der Begriff der Spezifität im wörtlichen Sinne der Speziesreaktion nicht aufrechterhalten werden kann. Die Forssmanschen Beobachtungen entziehen der allgemeinen Auffassung der Spezifität, derzufolge sie als Ausdruck der zoologischen Verwandtschaft galt, jeden Boden, da ein Überspringen nahestehender Arten angenommen werden müßte; aber die Ehrlichsche Theorie, die diese interessanten Versuche veranlaßt hatte, vermögen sie darum doch nicht zu erschüttern. Es ist ein besonderes Verdienst Ehrlichs, das Problem der Spezifität wesentlich weiter gefaßt zu haben: schon zu einer Zeit, als die Spezifität der Antikörperreaktionen mit dem zoologischen Speziesbegriff zusammengeworfen wurde, hob er nämlich hervor, daß die Antikörper sich gegen Atomkomplexe richten, die nicht einer Spezies eigentümlich zu sein brauchen, sondern eine weite Verbreitung im Tier- und Pflanzenreich besitzen können.

So wurde durch diese Kontroverse die weitblickende Voraussicht der Ehrlichschen Theorie noch glänzender rehabilitiert.

Keine der Einwendungen, die der Seitenkettentheorie entgegengehalten wurden, ist demnach imstande gewesen, sie umzustoßen, entweder weil die Kritiker von Irrtümern ausgingen, oder weil die Befunde mit der Ehrlichschen Theorie vereinbar waren, wenn man sie nüchtern und ohne Voreingenommenheit betrachtete. Man darf von der Theorie — so mahnt uns Ehrlich selbst — nicht verlangen, daß sie alle Rätsel löse, die ein so kompliziertes Problem wie das der Immunität aufgibt. Man muß sich damit begnügen, wenn sie dem Verständnis so komplizierter Prozesse den Weg ebnet, wenn sie den Pfad weist, den der Forscher betreten muß, um sich in ihr Studium zu vertiefen. Der unbestreitbare heuristische Wert der Theorie rechtfertigt sie schon an und für sich, weil es ihr in erster Linie zuzuschreiben ist, wenn die Immunitätslehre sich zu der wissenschaftlichen Bedeutung emporgeschwungen hat, die ihr allgemein zuerkannt wird. Die Immunitätserscheinungen werden also, insofern sie eine Abwehr, einen Schutz des Organismus bedeuten, durch die Auslegung von Ehrlich erklärt und in ein einheitliches Schema gebracht, was vom didaktischen und doktrinären Standpunkt aus ebenso wichtig ist, wie vom heuristischen. Einige Abweichungen, gewisse paradoxe Phänomene, die anscheinend mit der Theorie nicht übereinstimmen, erscheinen bei einer genauen Analyse als Ausnahmen, die ihre allgemeine Gültigkeit nur bestätigen. So können einige Beobachtungen von Überempfindlichkeit, wie wir gesehen haben, im Anschluß an die Ehrlichsche Theorie mit der Neubildung und der mangelnden Abtrennung der sessilen, d. h. in Verbindung mit den sensiblen Zellen gebliebene Rezeptoren erklärt werden. Aber nicht alle Erscheinungen der Überempfindlichkeit oder Anaphylaxie sind einer analogen Erklärung zugänglich. Die passive Anaphylaxie, die, im Wesen der passiven Immunität vollkommen gleich, durch das Serum eines anaphylaktischen Organismus auf einen gesunden übertragen wird und ihm statt Widerstandsfähigkeit eine Überempfindlichkeit gegen das Antigen, also eine umgekehrte Immunität verleiht, macht eine besondere Anpassung der Ehrlichschen Annahmen notwendig.

Theorie von Nicolle.

Gerade von der Seitenkettentheorie stammt nun, ohne daß der Autor sich dessen bewußt war, die physikalisch-chemische Theorie von Nicolle ab, die versucht, alle die vielfachen

Erscheinungsformen, die die antagonistische Reaktion des Organismus aufweist, in ein einheitliches Schema zu bringen.

Nicolle teilt die Antikörper in koagulierende und lösende ein. Die koagulierenden Antikörper, die Präzipitine, die Agglutinine und einige Antitoxine erzeugen eine erhöhte Widerstandsfähigkeit, weil sie die Antigene präzipitieren oder agglutinieren und sie so vom Schlachtfelde entfernen; denn: „corpora non agunt nisi soluta".

Die lösenden Antikörper dagegen können ebenso Immunität wie Anaphylaxie hervorrufen. Sie haben Immunität zur Folge, wenn die Produkte der Lösung unschädlich sind; so wirken z. B. wegen der vollkommenen Unschädlichkeit ihrer Produkte gewisse Antitoxine, in denen lösende Antikörper enthalten sind. Wenn jedoch die Substanzen, die aus der Lösung der Antigene herstammen, toxisch sind, rufen die lösenden Antikörper Anaphylaxie hervor, weil sie die Bildung derartiger Toxine begünstigen; so bei der Tuberkulose, bei der Serumkrankheit, bei den experimentellen Formen der Anaphylaxie von Richet, Smith und Arthus.

Zwischen diesen beiden Extremen steht die große Klasse der Lysine par excellence, Bakterio-, Hämo-, Zytolysine, die bald Immunität, bald Anaphylaxie hervorrufen können. Sie bewirken Immunität, wenn die Lösungsprodukte, obwohl sie toxisch sind, nach und nach, so wie sie sich bilden, ausgeschieden werden können; sie verursachen das Bild der Anaphylaxie, wenn das Auftreten der Toxine zu plötzlich und reichlich oder die Ausscheidung ungenügend ist. Es herrscht also bald die abwehrende, bald die toxische Wirkung vor; beide sind jedoch einem einheitlichen Lösungsprozeß zuzuschreiben, der sich aber nicht leicht regulieren oder nach Wunsch leiten läßt.

Die Nicollesche Hypothese ist zwar ein wenig zu spekulativ und noch nicht auf eine genügend breite experimentelle Basis gestellt, aber sie gestattet immerhin, in dem Ehrlichschen Schema alle Phänomene der Immunität, die wir bis jetzt kennen, zusammenzufassen.

Physikalisch-chemische Theorie von Nicolle.

ANTIKÖRPER

Koagulierende

Agglutinine Präzipitine Antitoxine

Widerstandsfähigkeit

Lösende

Bakterio- / Hämo- / Zyto- } lysine

Immunität Anaphylaxie

Fig. 3.

Noch weitere Vorschläge sind gemacht worden, die Ehrlichsche Theorie den neugefundenen Tatsachen besser anzupassen und sie dadurch vor Angriffen zu sichern.

Physikalisch-chemische Theorie von Landsteiner.

So fassen Landsteiner und seine Mitarbeiter die Reaktionen zwischen Antikörpern und Antigenen als physikalisch-chemische Prozesse zwischen Stoffen kolloider Natur auf und sehen in dem Protoplasma ein System von kolloidalen Substanzen, in dem die Bestandteile nicht nach fixen, sondern nach variablen Verhältnissen verbunden sind und das sich in einem labilen Gleichgewichtszustand befindet. Dringen Giftmoleküle in das Protoplasma ein, so entstehen Kolloidreaktionen, die eine Störung des gegebenen Gleichgewichtszustandes zur Folge haben.

Die Systeme des Protoplasmas sollen nach Landsteiner äußeren, schädlichen Einflüssen gegenüber auf besondere Art reagieren: so soll z. B. Temperatursteigerung in solchen Systemen Prozesse hervorrufen, bei denen Wärme absorbiert wird usw. Nach Ausschaltung eines Teiles der an dem Gleichgewicht beteiligten Substanzen sollen ferner Reaktionen eintreten, die bestrebt sind, den ursprünglichen Zustand wiederherzustellen, indem sie die Bildung neuer Stoffe anregen.

Traubes Theorie.

Viele Berührungspunkte mit den Anschauungen Landsteiners besitzt die vor einiger Zeit von Traube aufgestellte Theorie. Auch diese will an Stelle der chemischen Kräfte Ehrlichs physikalisch-chemische Adsorptionskräfte setzen: bei der Deutung der Entgiftung des Toxins durch das Antitoxin denkt Traube an einen Ausflockungsprozeß, bei dem der kolloidale

Giftstoff in dem Maße an Giftigkeit für das umgebende Milieu einbüßt, als sich die Teilchen zu immer größeren Aggregaten zusammenlagern. Bei diesem Prozeß bedarf es jedoch keiner sichtbaren Ausfällung, sondern es genügen ultramikroskopische oder zum mindesten mikroskopische Fällungen. Die Vorgänge der kolloidalen Aggregation und Desaggregation verbunden mit Adsorptionserscheinungen bilden nach Traube das Wesentliche bei den Immunitätsphänomenen.

Was die Spezifität der Immunitätsvorgänge betrifft, so sollen sie nicht auf der Anwesenheit chemisch abgestimmter haptophorer Gruppen beruhen, sondern lediglich auf einer durch die Antigenwirkung herbeigeführten physikalischen Abstimmung der Oberflächenkräfte, speziell der Kohäsionskräfte und der elektrischen. Wie man sich aber den Vorgang der Antikörperproduktion vorstellen soll, darüber gibt diese Theorie keinen Aufschluß.

Morgenrothsche Depressionsimmunität.

Daß diese Auffassung begründet ist, konnte in der allerletzten Zeit Morgenroth beweisen, der im Rahmen der Ehrlichschen Spezifität eine neue Immunität, die er Depressionsimmunität nennt, demonstrierte. Diese sofort zugleich mit der Infektion einsetzende Immunitätsform, die er auf Grund seiner experimentellen Nachforschungen über die Superinfektion fand, läßt sich dahin charakterisieren, daß jede nicht rapid tödliche Bakteriämie in ihrem Verlauf durch diese kinetische Depressionsimmunität bestimmt wird, die sich in einer Herabsetzung der Virulenz der Keime äußert.

Mithin bildet heute die Ehrlichsche Theorie das einzige Gebäude, in dem sich die Immunitätserscheinungen zwanglos unter voller Wahrung ihrer eigenartigen Charaktere unterbringen lassen, da Ehrlich bei ihrer Aufstellung mit ungewöhnlicher Voraussicht nicht bloß an die zunächst erkannten Tatsachen gedacht, sondern auch für die erst später ermittelten genügend Raum geschaffen hat.

Drittes Kapitel.

Die antitoxischen Sera.

Bedeutung der Rezeptoren. — Aktive Immunisierung. — Die Wertbemessung der Antitoxine: Testgift, Standardserum. — Diphtherieheilserum. — Paraspezifische Serumtherapie. — Serumkrankheit. — Anallergische Sera. — Tetanusserum. — Dysenterieserum. — Botulismus. — Rauschbrandantitoxin. — Serum gegen Schlangengifte. — Pollantin.

Verteilung der Rezeptoren.

Bei der Erklärung der Ehrlichschen Theorie haben wir gesehen, daß die Antikörper Seitenketten oder Rezeptoren des Protoplasmas darstellen, die, vom Zellkomplex abgetrennt, im Blutstrom frei zirkulieren. Die Lokalisation der Rezeptoren im Organismus ist also beim Ablauf des toxischen oder Infektionsprozesses, aber auch für die ätiologische Therapie das entscheidende Moment.

Die Bedeutung der Rezeptoren für das Zustandekommen des Krankheitsbildes liegt auf der Hand, denn nach unseren früheren Ausführungen über die Ehrlichsche Theorie ist es klar, daß ein Antigen, respektive ein Toxin, seine Wirkung auf Lebewesen, respektive Gewebe, nur dann ausübt, wenn Rezeptoren mit spezifischer Affinität für dasselbe bestehen. Der Krankheitsverlauf wird daher in erster Linie von dem Vorhandensein und der Verteilung der Rezeptoren im Organismus abhängen.

Einige Beispiele sollen die Bedeutung dieses Faktors klarstellen. Wird Tetanusserum in vitro mit einer Aufschwemmung von Schildkrötenhirn gemischt, so ändert dies nichts an seiner Giftigkeit; für Tetanus empfindliche Tiere reagieren auf die Einspritzung der Mischung wie auf das bloße Gift und sterben ebenso wie die mit Gift allein injizierten Kontrolltiere. Spritzt man der lebenden Schildkröte Tetanustoxin ein, so leidet sie

nicht im geringsten, trotzdem das Gift wochenlang im Blute nachweisbar ist. Dem Nervengewebe der Schildkröte fehlen eben die Seitenketten mit spezifischer Affinität für das Tetanusgift.

Im Gegensatze dazu neutralisiert das Nervengewebe des Meerschweinchens dasselbe Toxin in hohem Grade und in der Mischung ist dessen Toxizität verschwunden. Dieses Nervengewebe enthält also geeignete Rezeptoren und dementsprechend ist auch das Tier gegen das Gift äußerst empfindlich und unterliegt dem Tetanus sehr leicht.

Die infektiösen oder toxischen Erscheinungen sind jedoch nicht ausschließlich an die Gegenwart oder an das Fehlen spezifischer Rezeptoren gebunden, sondern es gibt auch Fälle, in denen die Gewebe eine deutliche Affinität für ein Toxin oder ein anderes Antigen zeigen, ohne daß deswegen eine Erkrankung eintritt. So verhält sich z. B. das Huhn gegen Tetanus, indem es anders reagiert als das Meerschweinchen und die Schildkröte.

Wie das Meerschweinchen neutralisiert auch das Huhn das Toxin mittels seiner Nervensubstanz, aber wie die Schildkröte und im Gegensatz zum Meerschweinchen empfindet es die toxische Wirkung wenig und ist imstande, hohe Dosen von Tetanusgift ohne Schaden zu vertragen. Auf den ersten Anschein hin wäre also das Verhältnis zwischen der Affinität des Antigens zum Gewebe und seiner biologischen Wirkung gestört. Aber eine genaue Analyse des Vorganges genügt, um uns diesen Widerspruch zu erklären. Es ist zwar richtig, daß das Huhn nicht mit Krankheitserscheinungen reagiert, aber es ist deswegen doch nicht ganz unempfindlich gegen das Gift, weil die Injektion des Toxins, die es anscheinend ungestört läßt, in Wirklichkeit doch eine wichtige Reaktion verursacht, welche sich im Auftreten von Tetanus-Antitoxin im Blute zeigt. Ein noch deutlicheres Beispiel für diese Vorgänge ist der Frosch, der ebenfalls in vitro nachweisbare Rezeptoren besitzt und unter normalen Existenzbedingungen auf Toxininjektionen ebensowenig mit Krankheitserscheinungen antwortet wie das Huhn. Es genügt jedoch, ein anscheinend refraktäres Tier nach der Einspritzung in einen auf ungefähr 37° erwärmten Raum zu bringen, damit der Tetanus ausbricht; gleichsam um zu beweisen, daß die Reaktion zwischen Organismus und Gift zwar stattfindet, wie es die Reaktion in vitro andeutet, aber die geeigneten Bedingungen abwartet, um nicht bloß mit der reaktiven Antikörperbildung,

sondern mit dem ganzen, ausgesprochenen Bild einer schweren Intoxikation aufzutreten. Diese Beobachtungen bestätigen und rechtfertigen wiederum die Unterscheidung zwischen haptophorer und toxophorer Gruppe, die einen Grundsatz der Ehrlichschen Theorie ausmacht.

Immunisierung.

Wir werden bei Besprechung der Anaphylaxie Gelegenheit haben, uns weiter mit der Bedeutung der Rezeptoren für die Pathologie zu beschäftigen; hier wollen wir uns ihrer praktischen Verwertung für die Immunisierung zuwenden. Es ist ja klar, daß man für die Herstellung der Sera solche Tiere heranzuziehen hat, die eine deutliche antiinfektiöse Reaktion darbieten, ohne dabei einen zu schweren Krankheitsverlauf zu zeigen, der etwa ihr Leben gefährden könnte.

Nehmen wir ein praktisches Beispiel. Zur Erzeugung des Diphtherieserums wird, wie Ihnen allen bekannt ist, meistens das Pferd verwendet; das Pferd gehört nämlich nicht zur Gruppe der gegen das Diphtheriegift unempfindlichen Tiere, welche aus Mangel an Rezeptoren keine Krankheitserscheinungen und Immunitätsreaktionen aufweisen, sondern es reagiert prompt auf die Einführung des Giftes, und zwar mit schweren Krankheitssymptomen, wenn das eingeführte Gift sehr stark ist. Bei Einspritzung mäßiger Dosen jedoch treten die Krankheitserscheinungen zurück, weil die Empfindlichkeit gegen das Toxin nicht groß ist; es überwiegen hingegen die Immunitätsreaktionen, die zur Bildung und zum Auftreten einer bedeutenden Menge von Antitoxin im Blute führen.

Des weiteren ist es in der Praxis nicht gleichgültig, ob wir das Toxin per os, subkutan, intravenös, intraparenchymatös oder in die sérösen Höhlen einführen, sondern das Toxin wird in der Regel subkutan injiziert. Da der stomachale Weg ausgeschlossen ist, weil der Magendarmkanal das Antigenvermögen zerstört, ist der Grund dieser durch die Erfahrung bewährten Technik leicht einzusehen, wenn man sich der gegebenen Schilderung der Verteilung der Rezeptoren im Organismus erinnert. Diese scheinen beim Pferde so ziemlich im ganzen Organismus zerstreut, aber besonders in den parenchymatösen Organen, und zwar speziell im Herzen in größerer Zahl vorhanden zu sein; diese Organe sind infolgedessen gegen die toxische Wirkung des Giftes besonders empfänglich. Die subkutane Injektion bewirkt daher, daß es nur nach und nach und in sehr verdünntem Zustand zu diesen

Organen gelangt; deswegen entfaltet es seine toxischen Wirkungen nicht, während die immunisierende Wirkung in genügend hohem Grade eintritt.

In analoger Weise geht man bei der Immunisierung der Pferde gegen Tetanus vor, weil das Tetanustoxin seine immunisierende Wirkung entfalten soll, ohne in solchen Mengen zum Nervensystem zu gelangen, daß es dort seinen Krämpfe erregenden Einfluß betätigen könnte. Die Auswahl der Tiere für die Immunisierung erfolgt also von zwei Erwägungen aus, erstens ob genügend Rezeptoren im Organismus vorhanden und zweitens, ob die Organe gegen das Toxin genügend widerstandsfähig sind. Unter den großen Tieren entspricht das Pferd diesen Bedingungen bei Tetanus und Diphtherie in ausreichendem Maße, daher seine Verwendung; aber es entspricht doch nicht so vollkommen, daß man immer jeder Unannehmlichkeit ausweichen könnte. In manchen Fällen behält trotz aller Vorsichtsmaßregeln die Affinität der sensiblen Organe die Oberhand und die Tiere erliegen infolge Herzlähmung oder sterben an Tetanus.

Vollständig ungeeignet aber sind die Tiere, denen die entsprechenden Rezeptoren entweder ganz fehlen, wie beim Tetanus die Schildkröte, oder die sehr arm an solchen sind, wie ebenfalls beim Tetanus das Rind. Und auch solche Tiere sind ungeeignet, die zwar Rezeptoren besitzen, aber sie ausschließlich oder vorwiegend in den sensiblen Organen haben, wie dies beim Tetanus für das Meerschweinchen zutrifft oder bei Diphtherie für das Rind, die also für die Serumproduktion nicht in Betracht kommen.

Wenn nun diese Grundbedingungen bei der Auswahl der serumliefernden Tiere erfüllt sind, dürfen wir darum doch nicht glauben, daß die Immunisierung immer nach einem einfachen Schema und einer einheitlichen Formel vor sich geht. Nicht bloß bei verschiedenen Arten, sondern auch bei verschiedenen Individuen einer Art sind die Resultate der Immunisierung mehr oder minder verschieden.

Wir haben schon erwähnt, daß einzelne Tiere einer resistenten Gattung ausnahmsweise eingehen können. Die widerstandsfähigen erreichen zwar alle eine so hohe individuelle Immunität, daß sie gegen jede noch so starke Dosis des Giftes refraktär werden, aber der antitoxische Wert, welcher im Serum vorgefunden wird, entspricht nicht immer den Erwartungen, zu

denen man auf Grund der bei fortschreitender Immunisierung erzielten Widerstandsfähigkeit berechtigt war.

Bei der Herstellung der Sera handelt es sich darum, die Tiere aktiv zu immunisieren und sie zu einem solchen Grad von Immunität zu bringen, daß die freien Rezeptoren in großer Menge in den Kreislauf ergossen werden. Die Methoden der Immunisierung bei den serumliefernden Tieren sind nun dahin gerichtet, ihnen zuerst eine gewisse Grundimmunität mit abgeschwächtem Virus zu verleihen und diese dann nach und nach entweder durch Einführung eines stärkeren Virus oder Giftes oder durch Steigerung der eingeführten Dosis zu verstärken. Die Grundimmunität gegen lebendes Virus wird erzielt entweder mittels Einspritzung pathogener Keime, die durch physikalische oder chemische Mittel abgeschwächt, respektive vollständig abgetötet, oder zwar noch virulent, aber wenig zahlreich sind; oder auch, indem man die aus den Keimen extrahierten bakteriellen Substanzen einführt.

Genau so verfährt man mit den Toxinen, indem man entweder abgeschwächte Gifte oder minimale Dosen starken Giftes einspritzt. Mit diesen Mitteln gelingt es, das Tier gegen eine für ein normales Tier tödliche Infektion oder Intoxikation refraktär zu machen; aber sie genügen nicht, um die Gewebe zu ganz übermäßiger Neubildung von Rezeptoren anzuregen, welche zu deren Übertritt ins Blut führt. Zu diesem Zweck erscheint es notwendig, die ursprünglich erhaltene Widerstandsfähigkeit auszunützen, um steigende Mengen von virulenten Keimen oder ungeschwächtem Gift einzuführen, bis man zuletzt das Tausendfache der tödlichen Dosis und noch mehr auf einmal einspritzen kann; in gleicher Weise empfiehlt es sich, auch dann allmählich mit den Dosen anzusteigen, wenn die Antigene unschädliche Stoffe sind.

Aus der Schilderung, wie Pferde zum Zweck der Herstellung von antitoxischem und antibakteriellem Serum in großem Maßstab immunisiert werden, können Sie entnehmen, wie der Immunisierungsprozeß sich graduell und allmählich entwickelt und periodisch mittels Auswertung der Blutproben kontrolliert werden muß, die nach und nach, je nachdem die Immunisierung fortschreitet, entnommen werden. Der immunisierende Wert des Serums wächst im Verlaufe der Immunisierung, aber er schwankt in seiner Größe bei den verschiedenen Pferden und erreicht verschiedene Höhen; wenn diese ungenügend sind, ist das Pferd

unbrauchbar; ist das Serum gut, so schreitet man zum Aderlaß oder zur Entblutung.

Wertbemessung.

Aus dem schon Gesagten werden Sie ohneweiters die Wichtigkeit dessen entnehmen können, was ich mehrfach die Wertbemessung des Serums genannt habe. Diese ist jedoch nicht nur für den Erzeuger des Serums von Bedeutung, sondern sie bietet die Möglichkeit, in der ärztlichen Praxis Präparate zu verwenden, die ebenso ausgewertet sind, wie die besten Medikamente der galenischen Pharmakopöe.

Der Arzt ist dank der Einführung dieser Wertbemessung nicht wie einst genötigt, aufs Geratewohl willkürliche Quantitäten von Serum mit ungenügend bekannter und schwankender Wirksamkeit zu injizieren, sondern er kann je nach der Schwere der Fälle jene Menge anwenden, die genau dem von ihm gewünschten Schutz- oder Heilwert entspricht.

Diese Vorteile werden Ihnen klarer und deutlicher werden, wenn ich Ihnen die Methode der Auswertung der Sera auseinandergesetzt haben werde. Von den Antikörpern gilt dasselbe, was von den Antigenen gesagt wurde: sie sind im allgemeinen chemisch nicht genau definierbare Stoffe und mit den sonst in der analytischen Chemie angewendeten Methoden nicht nachweisbar und meßbar. Wie die Antigene werden auch die Antikörper auf Grund ihrer charakteristischen biologischen Aktivität nachgewiesen und gemessen. Diese Auswertung ist jedoch in vitro nur in den Fällen möglich, in denen die Wirkung des Giftes selbst dort sichtbar ist. So agglutiniert z. B. Rizin rote Blutkörperchen in vitro; demnach ist die Wirksamkeit eines Rizinserums in der Weise bestimmbar, daß man einer bekannten Rizinlösung eine Menge von antitoxischem Serum zusetzt, die gerade genügt, das ganze Agglutinationsvermögen aufzuheben.

In der größten Zahl der Fälle jedoch ist dieses Verfahren undurchführbar, weil die toxische Wirkung der uns am meisten interessierenden Körper sich in vitro wenig oder gar nicht äußert und nur bei der Injektion am lebenden Tier deutlich wird. Dann muß man eben den oben angeführten Versuch auf das lebende Tier übertragen, d. h. man sucht die entsprechende Menge antitoxischen Serums aufindig zu machen, die genügt, die Toxizität einer bekannten Menge Gift aufzuheben.

Wertbestimmung des Tetanusserums.

So injiziert man z. B., um den Wert des Tetanusserums zu bestimmen, Mäuse oder Meerschweinchen mit dem auszuwertenden Serum und mit Tetanustoxin.

Im Institut Pasteur führt man eine Auswertung so aus, daß man zwei verdünnte Lösungen des Serums bereitet, die eine im Verhältnis von 1 : 100.000, die andere von 1 : 50.000; man injiziert Meerschweinchen je 1 cm^3 dieser Lösungen zugleich mit dem hundertfachen der letalen Toxindosis. Wenn diese Meerschweinchen keine spastischen Symptome zeigen, während die mit derselben Quantität Toxin geimpften Kontrolltiere in drei Tagen eingehen, wird der Titer des Serums als ausreichend betrachtet.

In Deutschland erfolgt die Wertbestimmung nach Behring, indem man das Serum mit verschiedenen Dosen Tetanustoxin von bekanntem Werte mischt und die Mischungen den Versuchstieren (Mäusen) injiziert. Von einer bestimmten Konzentration der Serumlösung an dürfen die Tiere keine Intoxikationserscheinungen mehr aufweisen. Als normales Tetanustoxin (TeTN) bezeichnet Behring das Gift, das in 1 *g* Substanz 150 Millionen minimal tödliche Dosen für 1 *g* Mäusegewicht (1 Ms) enthält, d. h., 150,000.000 *g* Mäusegewicht (+ 150,000.000 Ms). 1 *g* dieses Toxins wird in 33 cm^3 einer 10%igen Chlornatriumlösung aufgelöst; davon enthält 1 cm^3 0·03 *g* Gift = + 4,500.000 Ms. Bei Mischung von 0·1 cm^3 Tetanusserum mit 0·03 *g* Ms Toxin wird letzteres gänzlich neutralisiert, es enthält also das Serum in 1 cm^3 $10 \times 4{,}500.000 = 45$ Millionen Ms., d. h. eine Dosis Antitoxin, welche imstande ist, eine Dosis letalis für 45 Millionen Gramm Mäusegewicht zu neutralisieren. 1 cm^3 dieses Serum enthält eine I.-E. Um den Anforderungen der Praxis zu entsprechen, muß ein Tetanusserum nach Behring wenigstens 10 I.-E. im cm^3 enthalten.

Methode von Rosenau und Andersen.

In Amerika hingegen benützt man Meerschweinchen zur Auswertung des Tetanusserums und verwendet als Immunitätseinheit die zehnfache Antitoxinmenge, die nötig ist, um ein Meerschweinchen von 350 *g* 96 Stunden lang am Leben zu erhalten, dem man 0·1 I.-E. (Immunitätseinheit) + einer Dosis Testtoxin eingespritzt hat, welche ungefähr der hundertfachen letalen Minimaldosis entspricht.

Um ein Serum auszuwerten, geht man folgendermaßen vor: man wiegt rasch ungefähr 2—3 *cg* des vom Hygienischen Laboratorium in Washington gelieferten trockenen Testtoxins ab und löst sie in 3000 Teilen physiologischer Kochsalzlösung auf; 2·25 cm^3 dieser Lösung sind die Testdosis des Toxins und werden mit den verschiedenen Verdünnungen des auszuwertenden Serums und zur Kontrolle noch mit 0·1 I.-E. eines Serums, dessen Wert man kennt, gemischt.

Derzeit wird das Kontrollserum (Testserum) auch vom Hygienischen Laboratorium geliefert; ein Zehntel (0·1) einer I.-E. ist in 1 cm^3 der Lösung enthalten, die man durch Verdünnung eines Kubikzentimeters des Testserums mit 49 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung erhält. Die Mischungen bleiben eine ½ Stunde bei Zimmertemperatur stehen, dann werden die Meerschweinchen von 350—380 *g* subkutan injiziert, die man 5 Tage lang beobachtet. Zwei Meerschweinchen, denen man zur Kontrolle die

Testdosis des Toxins + 0·1 I.-E. des Testserums eingespritzt, sollen in 72—96 Stunden eingehen. Das auszuwertende Serum soll 0·1 I.-E. enthalten; eine Dosis, die genügt, um das Meerschweinchen 96 Stunden lang am Leben zu erhalten, trotzdem es Symptome von Tetanus zeigt.

Diese von Rosenau und Andersen angegebene amerikanische Methode ist jetzt in England, Brasilien und Belgien offiziell eingeführt und auch in Italien wird sie mit gewissen Veränderungen und Anpassungen, die sich noch im Versuchsstadium befinden, angenommen. Der Titer eines Serums, d. h. die Anzahl von I.-E., die es pro cm^3 enthält, wird von der Dosis abhängen, bei der man noch das Weiterleben des Meerschweinchens durch 4 Tage erzielt. Die hiezu nötigen Serummengen sind:

0·1 cm^3	$= \frac{1}{10}$		der Titer beträgt = 1 I.-E.
0·01 „	$= \frac{1}{100}$		„ „ „ = 10 „
0·004 „	$= \frac{1}{250}$	$\left(= \frac{4}{1000}\right)$	„ „ „ = 25 „
0·002 „	$= \frac{1}{500}$	$\left(= \frac{2}{1000}\right)$	„ „ „ = 50 „
0·001 „	$= \frac{1}{1000}$		„ „ „ = 100 „
0·00066 „	$= \frac{1}{1500}$	$\left(= \frac{66}{100.000}\right.$ ungefähr$\left.\right)$	„ „ „ = 150 „
0·0005 „	$= \frac{1}{2000}$	$\left(= \frac{5}{10.000}\right)$	„ „ „ = 200 „
0·00033 „	$= \frac{1}{3000}$	$\left(= \frac{33}{100.000}\right.$ „ $\left.\right)$	„ „ „ = 300 „
0·00025 „	$= \frac{1}{4000}$	$\left(= \frac{25}{100.000}\right)$	„ „ „ = 400 „
0·0002 „	$= \frac{1}{5000}$	$\left(= \frac{2}{10.000}\right)$	„ „ „ = 500 „
0·0001 „	$= \frac{1}{10.000}$		„ „ „ = 1000 „

Die Wertbemessung des Serums wird auf folgende Art ausgeführt. Zuerst stellt man vier Verdünnungen her:

Eine Verdünnung A durch Mischung von 9 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung + 1 cm^3 Serum; diese enthält pro cm^3 $\frac{1}{10}$ Serum = 1 I.-E.

Eine Verdünnung B durch Mischung von 9 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung + 1 cm^3 der Verdünnung A; diese enthält pro cm^3 $\frac{1}{100}$ Serum = 10 I.-E.

Eine Verdünnung C durch Mischung von 9 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung + 1 cm^3 der Verdünnung B; diese enthält pro cm^3 $\frac{1}{1000}$ Serum = 100 I.-E.

Eine Verdünnung D durch Mischung von 9 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung mit 1 cm^3 der Verdünnung C; diese enthält pro cm^3 $\frac{1}{10.000}$ Serum = 1000 I.-E.

Diese Verdünnungen können zur Auswertung jedes beliebigen Serums benützt werden, denn sie enthalten in einem cm^3 oder in Bruchteilen desselben die in vorstehender Tabelle angeführte Zahl von I.-E., und zwar:

1 cm^3 der Lösung	A	$= \frac{1}{10}$		= 1 I.-E.
1 „ „ „	B	$= \frac{1}{100}$		= 10 „
0·4 „ „ „	B	$= \frac{1}{250}$	$\left(\frac{4}{1000}\right)$	= 25 „
0·2 „ „ „ oder 2 „ „ „	B, C	$= \frac{1}{500}$	$\left(\frac{2}{1000}\right)$	= 50 „
1 „ „ „	C	$= \frac{1}{1000}$		= 100 „
0·66 „ „ „	C	$= \frac{1}{1500}$	$\left(\frac{66}{100.000}\right.$ ungefähr$\left.\right)$	= 150 „
0·5 „ „ „	C	$= \frac{1}{2000}$	$\left(\frac{5}{10.000}\right)$	= 200 „
0·33 „ „ „ oder 3·3 „ „ „	C, D	$= \frac{1}{3000}$	$\left(\frac{33}{100.000}\right.$ ungefähr$\left.\right)$	= 300 „
0·25 „ „ „ oder 2·5 „ „ „	C, D	$= \frac{1}{4000}$	$\left(\frac{25}{100.000}\right)$	= 400 „
2 „ „ „	D	$= \frac{1}{5000}$	$\left(\frac{2}{10.000}\right)$	= 500 „
1 „ „ „	D	$= \frac{1}{10.000}$		= 1000 „

Will man z. B. ein Serum auf 150, 300 und 500 I.-E. auswerten, so braucht man 5 Meerschweinchen.

Meerschweinchen von 350 g	Zu bestimmender Titer des Serums	Subkutane Injektion der ½ Stunde bei Zimmertemperatur gestandenen Mischung von 2·25 cm^3 Testtoxin	Resultat
1	150 I.-E.	mit 0·66 cm^3 der Lösung C .	keine Zeichen von Tetanus
2	300 I.-E.	0·33 cm^3 der Lösung C oder 3·3 cm^3 der Lösung D . .	Tetanus, bleibt aber am Leben
3	500 I.-E.	2 cm^3 der Lösung D	stirbt in 70 Stunden an Tetanus
4	Kontrolle	0·1 I.-E. Testserum (d. h. 1 cm^3 der Verdünnung 1 + 49)	stirbt in 96 Stunden an Tetanus
5	Kontrolle	detto	stirbt in 90 Stunden an Tetanus

In diesem Beispiel bewegt sich der für das auszuwertende Serum gefundene Grenzwert zwischen 300 und 500 I.-E.; in der Praxis muß man eine Verminderung im Laufe der Zeit gewärtigen und einen Spielraum für diese lassen, so daß man das Serum auf 300 I.-E. bewerten kann. Man muß also als prophylaktische Dosis, für die 1500 I.-E. als Norm gelten, 5 *cm*³ eines solchen Serums einspritzen.

Um nicht unnötigerweise zu viele Kontrollmeerschweinchen zu verbrauchen, deren Zahl sich ja bei jeder Wertbestimmung gleich bleibt, ist es zweckmäßig, mehrere Sera auf einmal auszuwerten.

Diese äußerst einfachen Verfahren leisten sehr gute Dienste bei der Auswertung des Tetanusserums, weil das Tetanustoxin relativ typisch wirkt und einfach herzustellen und zu konservieren ist; man kann es durch technische Kunstgriffe eintrocknen und so lange Zeit unverändert aufbewahren. Für das Diphtherietoxin stand eine Zeitlang eine ähnliche Methode in Verwendung. Aber das Diphtherietoxin ist nicht so beständig wie das trockene Tetanustoxin und ist auch nicht so leicht in jedem Augenblick in der gewollten Konzentration und mit bestimmtem toxischem Wert herzustellen. Die toxischen Lösungen haben einen schwankenden Gehalt an Toxinen und Toxoiden, daher ist es unmöglich, nach ihrem Grade von Toxizität die wirkliche Menge des vorhandenen Antigens abzuschätzen, das man zu Heilzwecken in toto neutralisieren muß. Deswegen ist der Ausgangspunkt für die Bestimmung des Titers ein Diphtherieserum von genau kontrolliertem Wert (das sogenannte Standardserum). Bei der Wertbestimmung gilt es, jene Menge des auszuwertenden Serums ausfindig zu machen, die die gleiche Quantität eines beliebigen Diphtheriegiftes neutralisiert, wie eine gegebene Menge des Standardserums; man wird dann sagen, daß es zwei-, drei-, zehnmal mehr Immunisierungseinheiten als das Standardserum enthält, wenn die Hälfte, ein Drittel oder ein Zehntel der Menge, in der man das Standardserum anwenden muß, genügt, um Krankheitserscheinungen oder den Tod zu verhindern. Dieses Standardserum, das den gegenwärtig benützten Maßstab darstellt, wird deshalb im Ehrlichschen Institut mit peinlicher Sorgfalt aufbewahrt, wie das Metermaß in Paris, weil das Vergleichsmoment für die fernere Auswertung fehlen würde, wenn es verloren ginge oder sich veränderte.

Standardserum.

In normalen Zeiten liefert das Institut in Frankfurt und neuerdings auch das hygienische Laboratorium des Gesundheitsamtes der Vereinigten Staaten regelmäßig alle 2 Monate eine frische Lösung von Standardserum, damit jedermann daran den Wert der in den Handel gebrachten

oder zu kontrollierenden Sera messen könne; die regelmäßige Erneuerung des Maßstabes nach je 2 Monaten hat sich als notwendig herausgestellt, weil das Standardserum sich abschwächt und dann nicht mehr den gewünschten Maßstab darstellt, wenn es nicht in den besonderen Apparaten aufbewahrt wird, die zu seiner Konservierung unerläßlich sind. Der Vorgang bei der Auswertung eines Diphtherieserums ist in der Praxis folgender: wenn man den Wert eines zum Verkauf bestimmten Diphtherieserums prüfen will, so ist zum Vergleich mit dem Standardserum als tertium comparationis ein Diphtheriegift notwendig. Um aber nicht jedesmal eine zu große Anzahl von Versuchen machen zu müssen, wenn man immer wieder ein neues Toxin anwendet, wählt man als Vergleichsmoment ein abgelagertes Toxin, das infolge seines höheren Alters nicht mehr merkbaren und raschen Änderungen seines Wertes ausgesetzt ist. Dieses Testtoxin wird ein für allemal mit dem Standardserum ausgewertet, indem man bei demselben zwei Giftdosen ermittelt, die Lo und L + heißen. Lo ist die Dosis Toxin, die, mit der Immunisierungseinheit des Standardserums zusammengebracht, weder lokale noch allgemeine Reaktionen ergibt. L + ist die Giftmenge, die unter denselben Bedingungen ein Meerschweinchen von 250 *g* in 4—5 Tagen tötet; das bedeutet, daß in der Mischung gerade eine letale Toxindosis freigeblieben ist.

Testtoxin.

Sowohl Lo als L + können zur Wertbestimmung verwendet werden, da sie sich mehrere Monate auf der gleichen Höhe erhalten und es genügt, wenn sie von Zeit zu Zeit kontrolliert werden; natürlich muß man das Toxin von solchen Einflüssen fernhalten, die imstande sind, es zu verändern. Anfangs verwendete man als Vergleichswert die Dosis Lo, während bei der jetzigen Prüfungsmethode auf den L + wert eingestellt wird, weil es zuweilen schwer wurde, zu entscheiden, ob nicht am dritten oder vierten Tag eine schwache Reaktion eingetreten sei; während der Wert L + vollständig unabhängig von jeder subjektiven Beurteilung und nur von einem objektiven Faktor, dem Tod oder dem Überleben des Tieres bestimmt ist.

Ist nun der L + wert eines Testgiftes bestimmt, so wissen wir also, welche Quantität davon, gemischt mit der Immunisierungseinheit des Standardserums ein Meerschweinchen von 250 *g* in 4—5 Tagen tötet; um den Titer des Serums zu bestimmen, genügt es dann, zur L + dosis verschiedene Verdünnungen des Serums hinzuzufügen, bis man die findet, die mit L + gemischt, ein Meerschweinchen von 250 *g* am vierten oder fünften Tag tötet; in dieser Verdünnung wird dann gerade eine antitoxische Einheit enthalten sein und aus dem Grad der Verdünnung kann man mittels einer sehr einfachen Berechnung die Anzahl der in einem cm^3 Serum enthaltenen Immunisierungseinheiten bestimmen.

Zur praktischen Ausführung genügt es also, zu einer Reihe von Eprouvetten, die je eine, ein für allemal ausgewertete L + dosis enthalten, je 1 cm^3 des auf 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 300, 1 : 400 etc. verdünnten Serums hinzuzufügen; die verschiedenen Mischungen werden einigen Meerschweinchen von 250—280 *g* subkutan eingespritzt und diese werden mindestens 4—5 Tage beobachtet. Nehmen wir nun an, daß in einem speziellen Fall die mit L + und 1 cm^3 von im Verhältnis 1:50,

5*

1 : 100, 1 : 200 verdünntem Serum injizierten Meerschweinchen gar keine Reaktion zeigen; daß das mit L + und auf 1 : 300 verdünntem Serum injizierte eingeht oder mit knapper Not davonkommt, und das mit L + und auf 1 : 400 verdünntem Serum injizierte nach 48 Stunden stirbt. Wir werden dann folgendermaßen schließen: 1. als wir 1/50, 1/100, 1/200 *cm* Serum nahmen, haben wir zu L + mehr als eine Immunisierungseinheit hinzugefügt, weil die Meerschweinchen, anstatt in 4—5 Tagen zugrunde zu gehen, nicht nur am Leben blieben, sondern nicht einmal irgendeine Reaktion zeigten; 2. spritzten wir 1/300 *cm* Serum ein, so haben wir wenig mehr als eine Immunisierungseinheit hinzugefügt, weil das Meerschweinchen nach 4—5 Tagen einging oder knapp davonkam; 3. nahmen wir schließlich 1/400, so haben wir viel weniger als eine Immunisierungseinheit hinzugefügt, weil das Meerschweinchen schon nach 48 Stunden starb. Das bedeutet, daß das Serum viel mehr als 50 oder 100 oder auch 200 Immunisierungseinheiten pro cm^3 enthält, und zwar etwas mehr als 300, aber viel weniger als 400. Wenn wir die Verdünnungen zwischen 1 : 300 und 1 : 400 untersuchen, werden wir den genauen Wert des Serums finden, der z. B. 320 Einheiten betragen wird. Handelt es sich um ein zum Verkauf bestimmtes Serum, so wird sein erklärter und vom Kontrollinstitut zugelassener Titer dann nicht höher als 300 Einheiten sein dürfen, eher niedriger, weil es notwendig ist, in Anbetracht der Abschwächung, die es im Verlaufe der Zeit erleiden kann, einen gewissen Spielraum zu lassen.

Zur Auswertung des Diphtherieserums verwendet man besondere Pipetten, die für die Sera auf 1 cm^3 austariert sind und auf 9, 14, 19, 24, 29, 34, 39 cm^3 etc. zur Verdünnung der Sera mit physiologischer Kochsalzlösung; die Verdünnung des Serums geschieht derart, daß die Einheit des auszuprobierenden Serums in 4 cm^3 enthalten ist. Das auszuwertende Serum wird folgendermaßen verdünnt:

mit 9 cm^3	physiologische Kochsalzlösung,	wenn man es auf 100 I.-E. auswerten will,
„ 14 „		„ „ „ „ 150 „ „ „
„ 19 „		„ „ „ „ 200 „ „ „
„ 24 „		„ „ „ „ 250 „ „ „
„ 29 „		„ „ „ „ 300 „ „ „
„ 34 „		„ „ „ „ 350 „ „ „
„ 39 „		„ „ „ „ 400 „ „ „
„ 49 „		„ „ „ „ 500 „ „ „

usw.

Damit die Einheit in 4 cm^3 enthalten sei, verdünnt man mit den eigens dazu bestimmten Pipetten 1 cm^3 der oben angeführten Lösungen mit 39 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung; dann mischt man 4 cm^3 dieser (zweiten) Verdünnung, immer mit Anwendung der besonderen Pipetten mit der Dosis L + und injiziert die Mischung Meerschweinchen von 250—280 *g*.

Die Dosis L + wird vorher bestimmt, indem man jene Menge eines, womöglich abgelagerten Serums sucht, die, einer Immunisierungseinheit des Testserums zugesetzt, ein Meerschweinchen von 250 *g* in ungefähr 4 Tagen tötet.

Der auf die angegebene Art festgestellte Titer des Serums wird in den meisten Ländern in den staatlichen Laboratorien kontrolliert und in Deutschland wird er nach 6 Monaten und nach 2 Jahren einer Nachprüfung unterzogen, um die Sera, die eine Abschwächung ihrer Wirksamkeit zeigen, einziehen zu können. Die Kontrollinstitute, wie das in Frankfurt am Main für Deutschland und die Laboratorien für öffentliche Gesundheitspflege in Rom für Italien, prüfen auch die Sterilität und Unschädlichkeit der für den Handel bestimmten Sera, die zum freien Verkauf nur dann zugelassen werden, wenn sie bei Impfung auf die gewöhnlichen Nährboden steril, beim biologischen Versuch unschädlich und mit einem solchen Gehalt an Immunisierungseinheiten versehen befunden werden, wie er vom Erzeuger angegeben ist.

Ist der Wert des Serums bestimmt, so wird es in Phiolen verteilt, die verschiedene Mengen des Serums, je nach seinem Titer und der Anzahl der auf den einzelnen Fläschchen angegebenen Immunisierungseinheiten, enthalten. Die in den Handel gebrachten Sera haben verschiedene Titer, d. h. sie können 200, 300, 400, ja bis 600 und 800 oder auch noch mehr Immunisierungseinheiten pro cm^3 enthalten; deswegen kann ein Fläschchen, das z. B. die Bezeichnung 1000 Immunisierungseinheiten trägt, verschiedene Serummengen enthalten, und zwar 5 cm^3 wenn es 200, 4 cm^3 wenn es 250, und 2 cm^3 wenn es 500 Einheiten pro cm^3 enthält.

Serumtherapie

Bei der therapeutischen Anwendung des Serums wird der Arzt die Behandlung nach den verschiedenen Gesichtspunkten einrichten, die sich in logischer und natürlicher Weise aus den eben dargestellten experimentellen und biologischen Erfahrungen ergeben.

Was die zu injizierende Menge des Serums betrifft, so wird er sich nach dem angegebenen Gehalt an Antitoxin richten und die Anzahl von cm^3 einspritzen, welche die dem gewünschten Schutzeffekt entsprechenden Immunisierungseinheiten enthält. Die Zahl der Immunisierungseinheiten wird er je nach der Schwere des Falls zu bestimmen haben. Er wird sich vor Augen halten, daß das von der antitoxischen Therapie angestrebte Ziel darin besteht, eine solche Zahl von (antitoxischen) Rezeptoren in den Kreislauf zu bringen, daß sie die sessilen, d. h. an den Zellen sitzenden Rezeptoren an Menge übertreffen und reichlich genügen, um das Toxin, das sich im Kreislauf befindet oder noch dahin gelangen wird, zu binden und zu neutralisieren. Die Menge des Serums, respektive der Immunisierungseinheiten wird also im Verhältnis zum Körpergewicht und zur Schwere der Intoxikation ansteigen, von der der Patient bedroht oder ergriffen ist. Nur das Serum gegen Schlangengift macht eine Ausnahme von dieser Regel, weil da die Giftmenge eine konstante ist, die sich

im Organismus so verteilt, daß bei Gleichheit der mit dem Biß eingeführten Dosis man um so weniger Serum braucht, je größer das Körpergewicht des Individuums ist. Der Arzt wird trachten, das Mittel so frühzeitig als möglich anzuwenden; je weiter die Krankheit vorgeschritten ist, desto stärker wird die Intoxikation sein, weil die Menge des Toxins um so größer ist, die schon Zeit gehabt hat, sich an die sessilen Rezeptoren in den Geweben zu binden und dort irreparable Schäden zu setzen. Bei diphtherieverdächtigen Fällen wird man daher sofort wenigstens 1000, besser aber 2000—3000 Immunisierungseinheiten injizieren; bei schweren Fällen aber ist es ratsam, gleich mit 3000—4000 Immunisierungseinheiten anzufangen und die Dosis eventuell zu wiederholen, wenn der Zustand des Kranken es verlangt. Zur Beurteilung der Serumwirkung dienen Temperatur und Pulszahl, die schon nach wenigen Stunden abzusinken beginnen, so daß sie im Anfangsstadium innerhalb 24 Stunden zur Norm zurückkehren können. Wenn man innerhalb 24 Stunden nach der ersten Injektion, falls keine Komplikationen hinzugetreten sind, weder eine Herabsetzung der Temperatur, noch eine Verminderung der Pulsfrequenz konstatieren kann, soll man eine zweite Injektion mit derselben Dosis oder lieber mit einer größeren Anzahl von Immunisierungseinheiten vornehmen. Im allgemeinen ist es gut, schon von Anfang an mit der Zahl der Immunisierungseinheiten nicht zu sparen; die Wiener Schule empfiehlt, 100 I.-E. pro Kilogramm Körpergewicht einzuspritzen, sobald nur die ersten Symptome auftreten und bei schweren Fällen immer 500 I.-E. pro Kilogramm Körpergewicht anzuwenden.

Den günstigsten Erfolg mit der Serumtherapie erzielt man durch Einspritzung großer Serumdosen, wobei nach 24 Stunden, wenn Pulsfrequenz und Temperatur nicht gesunken sind, noch größere Dosen angewendet werden sollen. Noch ein anderer sehr wichtiger Rat geht, soll die Kur von Erfolg begleitet sein, dahin, keine Zeit zu verlieren. Tatsächlich kann man aus allen Statistiken entnehmen, daß die Mortalität um so geringer ist, je früher die serotherapeutische Behandlung eingesetzt hat, und die Tierversuche bestätigen die statistischen Daten vollständig.

Intravenöse und intramuskuläre Injektion.

Ein dritter nicht zu vernachlässigender Faktor ist der Weg der Einführung; die Antikörper dürfen ebensowenig wie die Antigene per os gereicht werden, weil die Magendarmsäfte die wirksamen Stoffe der Immunsera angreifen.

Das Serum wird gewöhnlich mittels der üblichen Technik subkutan eingespritzt. In neuerer Zeit aber wird von berufener Seite die intramuskuläre Anwendungsart empfohlen, bei der eine raschere Resorption der aktiven Substanzen erfolgen soll. Bei verzweifelten Fällen, die spät zur Behandlung kommen, ist jedoch die intravenöse Injektion vorzuziehen, die sich beim Tierversuch 500mal wirksamer als die subkutane gezeigt hat. In der Tat hat diese Methode sehr gute Resultate ergeben und soll in ganz schweren Fällen lebensrettend wirken, wenn die eingespritzte Dosis bis 20.000, ja bis 25.000 Immunisierungseinheiten auf einmal enthält.

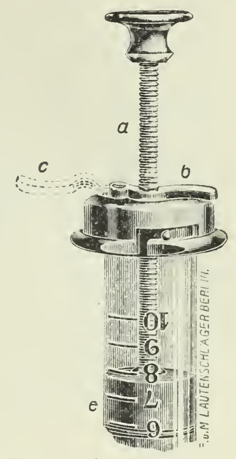


Fig. 4. Injektionsspritze nach Friedberger.

a) Kolbenstange m. Schraubengewinde; *b)* Hebel, verstellbar, mit eingeschnittener Schraubenmutter; *c)* derselbe, gedreht, wodurch die Bewegung des Kolbens frei wird; *e)* Stempel.

Dieser experimentell und klinisch erprobte Weg wird noch immer nicht genügend gewürdigt, so daß wir ihn auch an dieser Stelle zur weiteren und allgemeinen Anwendung empfehlen zu sollen glauben. Wir meinen, daß es nicht nur in den schwersten und anscheinend verzweifelten Fällen richtig ist, die Sera intravenös zu injizieren. Die Scheu vor dieser Einführungsart kann nicht mehr mit der Schwierigkeit und der Gefahr des Eingriffes begründet werden; die intravenöse Injektion der Sera verlangt gar keinen anderen Apparat als den für die subkutane Therapie verwendeten, ihre Technik ist überaus leicht, wovon jeder, der sie einmal unter Anleitung versucht hat, sich überzeugen kann; sie birgt keinerlei Gefahren, sofern man nur die geringste Sorgfalt auf die Asepsis verwendet und lediglich den Eintritt von Luft in die Vene zu verhüten trachtet, was sich ja von selbst versteht. Unter diesen Kautelen ist die intravenöse Injektion nicht bloß ebenso ungefährlich wie die subkutane, sondern sie hat vielleicht noch weniger unangenehme Begleitumstände, weil sie bei richtiger Ausführung die Bildung eines jeden Infiltrates oder einer lokalen Reaktion vermeidet. Die intravenöse Injektion vermag selbst in den schwersten Fällen die Wirkung des Serums zur Geltung zu bringen, weil sie eine große Anzahl von Rezeptoren direkt in den Kreislauf bringt, die das schon in den Organen gebundene Toxin sofort erreichen und unschädlich machen können.

Jede gut tastbare Vene kann zur intravenösen Injektion benützt werden; gewöhnlich ist aber die Ellbogenbeuge der Ort der Wahl. Die Injektion wird in zentripetaler Richtung ausgeführt. Nach Bestimmung der Vene beginnt man damit, das etwas erwärmte Serum aufzuziehen und die Luft zu verdrängen, desinfiziert dann zuerst die Haut mit Alkohol, hierauf mit Äther und legt oberhalb der Ellbogenbeuge des Patienten eine Staubinde an, die leicht, ohne Stoß, aufzulösen ist. Die Vene wird mit der Nadel angestochen, bevor diese noch auf die Spritze aufgesetzt ist; ist sie ins Gefäßlumen eingedrungen, so fließt Blut aus der Nadel aus; dann wird die Spritze angesetzt, die Binde geöffnet und die Injektion ausgeführt. Bezüglich der Haltung der Hände und der Spritze richtet man sich möglichst nach folgender Abbildung.

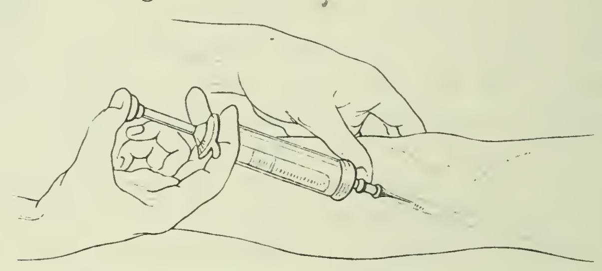


Fig. 5. Intravenöse Injektion.

Die subkutane Injektion dagegen, speziell die kleiner Serumdosen, ist die gebräuchlichste, ja die einzige Methode bei der Prophylaxe der Diphtherie und ist, wie aus den Statistiken hervorgeht, ausgezeichnet geeignet, zu Zeiten einer Epidemie eine Infektion zu verhüten; zu diesem Zweck genügen 200 bis 300 Immunisierungseinheiten, um eine in der Praxis hinreichende Immunität zu verleihen. Trotzdem hat die Anwendung des Diphtherieserums als Prophylaktikum nicht die erwartete Verbreitung gefunden, obwohl diese Verwendung, gerade weil sie präventiv wirkt, uns bessere Bedingungen zur Bekämpfung der Diphtherie schafft, so daß wir mit voller Sicherheit auf ein günstiges Resultat rechnen können.

Vorurteile.

Der Hauptgrund dafür, daß sich die prophylaktische Anwendung des Diphtherieserums nicht eingebürgert hat, ist in der Voreingenommenheit zu suchen, die bei vielen Ärzten eingewurzelt ist; man will nicht zum Serum greifen, wenn man nicht

durch absolute Notwendigkeit dazu gezwungen wird. Es bestehen nämlich immer noch irrtümliche Anschauungen über üble Zufälle nach der Serumtherapie, die man widerlegen muß, damit dem Serum nicht eingebildete Übelstände angedichtet werden. Die Legende, daß die postdiphtheritischen Lähmungen und die Nephritiden dem Serum zuzuschreiben seien, erscheint abgetan, nachdem es zur Genüge bewiesen ist, daß sie gerade in den Fällen schwerster Intoxikation auftreten, die ohne Serum wahrscheinlich einen tödlichen Ausgang genommen hätten. Gewöhnlich treten solche Lähmungen und Nephritiden auf, wenn die Seruminjektionen zu spät angewendet werden, wenn also nach der Ehrlichschen Theorie das Gift sich schon an die Zellen der Muskeln und Nerven oder der Nieren verankert und dort irreparable Schäden gestiftet hat. So ist auch die Scheu unberechtigt, die von der Angst vor anderen Gefahren und weiteren Zwischenfällen eingegeben wurde, wie sie in Wirklichkeit in der ersten Periode der Serumtherapie infolge von Verunreinigungen und Mängeln des Serums auftraten. Heute, wo die staatliche Kontrolle für Unschädlichkeit und einen entsprechenden Wert des Serums sorgt, ist jede Gefahr ausgeschlossen; das Serum kann ruhig angewendet werden, wenn man sich dabei nur vor Augen hält, daß es wirklich unter gewissen Umständen mehr oder minder leichte Störungen hervorrufen kann.

Serumkrankheit

Die Seruminjektion kann nämlich von Erscheinungen gefolgt sein, die unter dem Namen Serumkrankheit bekannt sind; sie sind entweder lokal und treten dann in Gestalt von Schwellung und Rötung an der Injektionsstelle auf, oder sie sind allgemeiner Natur und haben dann das Aussehen von Erythema multiforme oder Urtikaria, begleitet von Fieber und Gelenksschmerzen. Diese Symptome treten gewöhnlich 10—12 Tage nach der Injektion auf, aber in Fällen, die schon früher Seruminjektionen bekommen haben, können sie schon in den ersten 6—7 Tagen oder auch wenige Stunden nach der Reinjektion und dann in besonders intensiver Weise beobachtet werden. Das Auftreten solcher Phänomene nach der Serumbehandlung braucht jedoch nicht zu beunruhigen, weil sie in der Regel innerhalb 24—48 Stunden abklingen, ohne im allgemeinen nachweisbare Spuren oder Folgen zu hinterlassen.

Gewiß können die Todesfälle, die man dem Serum zuschreiben wollte, nicht ohneweiters zugegeben werden, aber es

ist nicht zu leugnen, daß die Erscheinungen der Serumkrankheit zuweilen ein beunruhigendes Bild darbieten, das von Erstickungsanfällen, Atemnot, Ödemen, Drüsenschwellungen beherrscht wird und wegen seines plötzlichen Auftretens erschreckt; glücklicherweise aber verschwinden diese Symptome, einige hartnäckige Formen von Urtikaria ausgenommen, ebenso rasch, wie sie gekommen sind. Diese Zufälle gehen gewöhnlich gut aus und werden daher von dem Arzt, der darauf vorbereitet ist, immer weniger gefürchtet. Beweis dessen die zunehmende Ausbreitung der Serumtherapie, und zwar nicht bloß der spezifischen, sondern auch der nicht spezifischen, die gegen die verschiedensten Infektionsprozesse (Pneumonie, Bronchopneumonie, Erysipel, Ozäna, Pleuritis, Meningitis, Scharlach, septische Augenerkrankungen usw.) die antagonistische Wirkung der nicht spezifischen Rezeptoren verwertet; diese ist, wie in jedem anderen Serum, so auch im Diphtherieheilserum vorhanden und es wird in solchen Fällen nur darum angewendet, weil es leichter zu haben ist als die andern. Bei der paraspezifischen Serumtherapie, wobei man das Diphtherieserum vorteilhaft durch frisches normales Serum ersetzen kann, hat man beobachtet, daß die Serumkrankheit auch durch jedes heterogene Serum hervorgerufen werden kann, genau so, wie man das auch bei Injektionen von normalem Serum zwecks Blutstillung gesehen hat.

Die Serumkrankheit ist in der Tat dem Serum als solchem zuzuschreiben, da auch die Injektion artfremder normaler Sera dieselben Unannehmlichkeiten nach sich zieht. Auch bei Laboratoriumstieren kann man experimentell durch artfremde Sera ein Krankheitsbild mit ebenso plötzlichem Auftreten erzeugen. Gerade bei den Versuchen an Meerschweinchen und Kaninchen konnte man die Entstehungsweise der Serumkrankheit ergründen und ihr wahres Wesen in einer Reaktion des Organismus auf eingeführtes artfremdes Serum erkennen. Die Serumkrankheit tritt infolge einer ersten Injektion erst nach 10—12 Tagen auf, weil der Organismus nicht weniger als 10 Tage braucht, um aktiv die Produkte zu bilden, deren Zusammentreffen mit dem noch zirkulierenden artfremden Serum den geschilderten Symptomenkomplex erzeugt; aber nach einer zweiten Injektion können diese Symptome auch früher auftreten, weil die Reaktionsprodukte des Organismus noch von der ersten Injektion her bereit sind und sich nur mit dem neu eingeführten Serum zu

verbinden brauchen, um das beschriebene Bild zu ergeben; vielleicht erscheint es auch darum rascher, weil der noch von der ersten Injektion her gereizte Organismus rascher reagiert.

Schon lange bevor die Erscheinungen der Serumkrankheit als Ausdruck eines vom Serum erzeugten anaphylaktischen Zustandes genügend erklärt waren, suchte man ein Mittel ausfindig zu machen, um ihr Auftreten zu verhüten, um so mehr, als die Serumanwendung eine täglich wachsende Verbreitung fand. Es muß jedoch zugegeben werden, daß bis jetzt alle Versuche, die nach der ersten Injektion auftretende Serumkrankheit zu vermeiden, noch zu keinem verläßlichen Resultate geführt haben. Die einzigen Mittel, um die unangenehmen Nebenwirkungen des Serums wenigstens abzuschwächen, bestehen darin, es zu erwärmen und ablagern zu lassen; das System der Erwärmung wird in Frankreich angewendet, aber die Temperaturen können natürlich nicht höher als bis 50, höchstens 55° gehen, weil sonst der Heilwert des Serums leiden oder direkt vernichtet würde.

In Deutschland wird derselbe Zweck durch längeres Ablagern erzielt, da auch auf diese Weise die mehr dem frischen Serum anhaftenden anaphylaktischen Nebenwirkungen verschwinden oder sehr abgeschwächt werden, wobei man noch den Vorteil hat, daß der Immunisierungswert konstanter wird, und jedenfalls für eine längere Zeit gleich bleibt als bei frischem Serum.

Es hat sich nämlich herausgestellt, daß frische, d. h. eben dem Pferd entnommene Sera zwar in den ersten Wochen viel von ihrem Immunisierungswert verlieren, so daß sie einen bis zwanzigprozentigen Verlust aufweisen können, ältere, abgelagerte Sera aber ihren Wert längere Zeit hindurch fast auf gleicher Höhe behalten. Es ist also ein Irrtum, die frischen Immunsera den abgelagerten vorzuziehen; letztere haben im Gegenteil zwei Vorzüge gegenüber den frischen: die größere Konstanz ihres Wertes und die geringere Neigung, die Serumkrankheit hervorzurufen.

Einführung per os.

Die einfachste Methode, um diese Übelstände zu vermeiden, wäre, das Serum per os zu geben; aber leider greift die Verdauungstätigkeit der Magensäfte nicht nur die Substanzen an, denen die Serumkrankheit zuzuschreiben ist, sondern verändert auch das Antitoxin.

Lokale Anwendung.

Auch die lokale Anwendung des Serums in Form von serumgetränkten Tampons verursacht

niemals die unangenehmen Erscheinungen der Serumkrankheit nach Reinjektionen, die uns so sehr beschäftigen; aber ihre Wirksamkeit bleibt auf die behandelten Stellen beschränkt, weshalb diese Behandlungsweise wirkliche Erfolge nur bei Krankheitsformen zeitigt, die einer Lokalbehandlung leicht zugänglich sind, wie zum Beispiel die Konjunktivitis der Diphtheriekranken.

Anallergische Sera.

Die Tierversuche haben uns jedoch einen anderen Weg gewiesen, der sehr gut dazu führen kann, die Krankheitserscheinungen zu vermeiden, die ziemlich häufig im Anschluß an eine Reinjektion von Serum aufzutreten pflegen. Sie gestatten uns, die auf eine Reinjektion folgende Serumkrankheit als einen Komplex von Erscheinungen aufzufassen, der auf der zweimaligen Injektion von Serum ein und derselben Tiergattung beruht. So ist bei Kaninchen, die in Zwischenräumen wiederholten Injektionen artfremden Serums unterzogen wurden, ein Krankheitsbild als Arthussches Phänomen bekannt, das durch das Auftreten von Ödemen und Schorfen an der Injektionsstelle gekennzeichnet ist; bei Meerschweinchen, die zur Auswertung des Diphtherieserums vom Pferde gedient haben, wurde das akute Einsetzen shockartiger Erscheinungen infolge einer Reinjektion von Pferdeserum als Theobald Smithsches Phänomen beobachtet. Diese als Ausdruck eines anaphylaktischen Zustandes erkannten Erscheinungen treten bei den Versuchstieren nur dann auf, wenn man zur Reinjektion Serum von derselben Tierart verwendet, die auch das Serum für die erste Injektion geliefert hat. Das Bild der Anaphylaxie fehlt aber oder ist nur angedeutet, wenn man sich zur Reinjektion des Serums einer Tierart bedient, die von der zur ersten Injektion verwendeten verschieden ist. Dies ist nun ein Weg, um dieser, der Serumtherapie mit Recht zugeschriebenen Unannehmlichkeit zu begegnen. Es würde genügen, wenn die Institute Diphtherieserum verschiedenen Ursprunges herstellten, indem sie außer Pferden auch andere Tiere immunisieren, und der Arzt könnte verschiedene, d. h. von verschiedenen Tieren stammende Sera anwenden, je nachdem es sich darum handelt, eine präventive oder eine erste Heilinjektion oder eine Reinjektion wegen Rezidivs auszuführen. Die Versuche, die in diesem Sinne angestellt wurden, um andere Tiere als Pferde gegen Diphtherie zu immunisieren, haben dazu geführt, vom Hammel ein hochwertiges Diphtherieserum gewinnen zu

können, und ebenso ist es gelungen, ein wirksames Milzbrandserum außer vom Pferd und Esel auch von der Ziege und dem Rind herzustellen, welches dazu dienen könnte, die üblen Zufälle der Anaphylaxie beim Menschen sowie bei der Serovakzination gegen Milzbrand vermeiden zu helfen. Diese Sera werden als „zur Reinjektion bestimmte oder anallergische" (α privativum und Allergie) bezeichnet, weil sie dazu bestimmt sind, die allergischen Erscheinungen der Serumkrankheit beim Menschen und beim Tier zu verhüten. In der Veterinärmedizin kann solchen Übelständen abgeholfen werden, indem man als anallergische Sera homologe Sera verwendet, d. h. Sera, die von der gleichen Tierart stammen, welche der Serumbehandlung unterzogen werden soll.

Eine andere Methode, diesen Unannehmlichkeiten auszuweichen, ist die von Besredka vorgeschlagene der allmählich gesteigerten Injektionen; seine Anregung beruht auf der Tatsache, daß eine Injektion einer ganz kleinen Menge (0·1 cm^3) von heterogenem Serum vor der großen gefährlichen Reinjektion dieser letzteren ihre ganze Gefährlichkeit benimmt, während jene erste infolge der geringen Dosis harmlos ist. Praktischer und oft ausreichend zur Verhütung der Serumkrankheit ist der von Friedberger und Mita vorgeschlagene Weg, die Reinjektionen sehr langsam auszuführen, so daß das selbe Ziel auf einmal erreicht wird.

Somit haben wir die den Seris im allgemeinen und dem Diphtherieserum im besonderen zugeschriebenen Nebenwirkungen aufgezählt und klargestellt, daß der einzige wirklich dem Serum anhaftende Übelstand die Serumkrankheit ist, die übrigens auch eingeschränkt, wenn nicht ganz vermieden werden kann. Experimentell ist es zwar erwiesen, daß gewisse Sera für bestimmte Tierarten toxisch wirken: so wirkt z. B. Rinderserum bei Meerschweinchen nach subkutaner Einführung nekrotisierend, nach intraperitonealer und intravenöser Einspritzung sogar tödlich und auch Menschenserum vermag bei dieser Tierart schwere toxische Erscheinungen und selbst den Tod herbeizuführen. Klinisch sind aber diese Besonderheiten belanglos, da am Menschen solche Nebenerscheinungen nicht auftreten, sondern sowohl Rinder-(diphtherieheil)serum als auch, wie es natürlich ist, homologes Rekonvaleszentenserum ohne Störungen verwendet wurden. Ebenso ist experimentell festgestellt worden, daß im Laufe der

Giftigkeit gewisser Sera

Immunisierung gewisse Antisera eine primäre Giftigkeit erwerben: so konnte gezeigt werden, daß Sera von Kaninchen, speziell von solchen, die mit Hammelblut, aber auch, wiewohl seltener, von solchen, die mit heterogenen Seris oder mit Bakterien vorbehandelt sind, unter Umständen für normale Meerschweinchen akut giftig wirken. Diese „primäre" Antiserumgiftigkeit, für die erwiesen ist, daß die Antikörper von ausschlaggebender Bedeutung sind, da ihre Absorption das Serum seiner Toxizität beraubt, ist jedoch für die Medizin bloß vom theoretischen Standpunkt aus beachtenswert. Praktisch kommt sie für den Menschen höchstens bei gewissen antibakteriellen Seris (Gonokokkenserum, Milzbrandserum) in Betracht, bei denen klinische Nebenwirkungen speziell auf das Herz, die durch Digitalis erfolgreich verhütet werden, nicht ohneweiters geleugnet werden können.

In der Veterinärmedizin hingegen kann diese Giftigkeit, auf die besonders Carpano hingewiesen hat, bei den Immunseris gegen Rinderpest und Pferdesterben, die mit virulentem homologen Blut hergestellt werden, so stark sein, daß nach intravenöser Injektion sogar der Tod des Tieres eintritt. Aber diese größeren oder kleineren Unannehmlichkeiten können die überragenden Vorteile der Serumtherapie nicht verringern.

Es ist wohl überflüssig, heutzutage noch die umfangreiche Statistik anzuführen, die die ausgezeichnete Heilwirkung des Serums bei Diphtherie beweist. Die einstigen lebhaften Diskussionen über seinen Wert zur Bekämpfung dieser schrecklichen Krankheit sind von der deutlichen Sprache der Ziffern zum Schweigen gebracht worden, welche durchwegs den raschen Abfall der Diphtheriemortalität seit Einführung der Serumtherapie beweisen; aus den sich auf Tausende von Fällen beziehenden Berechnungen geht deutlich hervor, daß die Mortalität um 20 Prozent gesunken ist, auch dort, wo man sich nicht auf einen „sanfteren genius epidemicus" berufen konnte, dem früher die Feinde der Serumtherapie die Verminderung der Mortalität zuzuschreiben geneigt waren, die sich gleich nach Einführung der Diphtherieserumtherapie gezeigt hatte.

Wir werden uns also nicht damit aufhalten, von neuem eine Frage zu erörtern, über die heute die Akten als definitiv geschlossen betrachtet werden können, sondern wir wollen lieber zu den anderen antitoxischen Seris übergehen, die vorgeschlagen wurden, um zwei andere Infektionen zu bekämpfen, nämlich zum

Tetanus- und zum Dysenterieserum; denn auch diese Infektionen werden in letzter Instanz mehr durch die von den Mikroben erzeugten Toxine hervorgerufen als von den Bazillenleibern selbst.

Tetanusserum.

Die Darstellungsweise und die Auswertung des Tetanusserums wurden schon früher besprochen. Das in den Handel gebrachte Tetanusserum enthält in der Präventivdosis eine Menge Antitoxin, die genügt, um über eine Million für Meerschweinchen letaler Toxindosen zu neutralisieren und imstande ist, Milliarden in Mäusegewichtseinheiten zu schützen. Trotz dieser außerordentlichen Wirksamkeit, die das Serum entwickelt, wenn es in vitro mit dem Toxin gemischt und nach halbstündigem Kontakt mit dem Toxin injiziert wird, zeigten doch schon die ersten serotherapeutischen Versuche, daß das Tetanusserum als Heilmittel nur eine beschränkte Wirksamkeit zu entfalten vermag. Dieses Serum wirkt namentlich dann kurativ, wenn es innerhalb einer ganz kurzen Frist nach der Infektion zur Anwendung kommt; man muß also leider zugeben, daß die Serumtherapie beim Tetanus eigentlich nur dann Aussicht auf Erfolg hat, wenn die Inkubationszeit sehr lang und die Entwicklung der Krankheit eine sehr langsame war, und daß sie den Kranken nur selten retten kann, wenn eine gewisse Zeit nach der Infektion verstrichen ist. Nur wenn das Serum innerhalb 24 Stunden nach den ersten Erscheinungen angewendet werden kann und die Krankheit sich langsam entwickelt, ist es imstande, das Toxin von den empfindlichen Zellen abzulenken; ist dieses aber erst einmal an die Nervenzellen verankert, dann kann das Antitoxin es nicht mehr davon trennen.

Aber in diesen letzten Jahren, wo das Tetanusserum eine Verbreitung wie nie vorher fand, ist die Überzeugung immer stärker durchgedrungen, daß es auch in Fällen von deklariertem Tetanus eine gute Wirkung auszuüben vermag. Das Serum kann zwar leider nicht regelmäßig Tetanuskranke dem Tode entreißen, doch kann man immerhin durch eine energische Serumtherapie die Mortalität um 20% herabdrücken. Freilich ist dazu unumgänglich nötig, daß das Tetanusantitoxin sorgfältig und ausgiebig angewendet wird. Die deutschen Kliniker führen zwecks Heilung des ausgesprochenen Tetanuskrankheitsbildes auf verschiedenen Wegen 500—800 I.-E. (nach Behring) täglich ein; die Franzosen machen eine ausgiebige Injektion in den

Rückenmarkskanal; die Engländer und Amerikaner spritzen sofort 10- bis 20.000 I.-E. (nach Rosenau) in den Rückenmarkskanal oder intravenös ein, wiederholen die Dosis am folgenden Tag und geben dieselbe Dosis nach 2 Tagen subkutan, um das antitoxische Vermögen des Blutes immer auf derselben Höhe zu erhalten. Es scheint am zweckmäßigsten, das Tetanusserum in den Rückenmarkskanal einzuspritzen, denn diese Methode ist wirksamer als die anderen (subkutan, intramuskulär, intravenös, endoneural, intrazerebral), von denen einige auch nicht gefahrlos sind.

Zweifellos ist das Tetanusserum ein sehr gutes Präventivmittel, da es bei den prophylaktischen Injektionen Zeit hat, das Toxin, sowie es entsteht, bevor es sich noch an die Gewebe bindet, festzuhalten. Darum hat es bei der Verhütung des Tetanus vorzügliche Resultate gegeben und gibt sie in der medizinischen und tierärztlichen Praxis noch fortwährend. In der Veterinärchirurgie greift man zum Tetanusserum als Präventivmittel, z. B. so oft man eine Kastration oder eine Entfernung des Schwanzes vornimmt. Ohne Widerspruch befürchten zu müssen, kann man behaupten, daß die Verhütung des Tetanus unter den modernen Methoden der spezifischen Prophylaxe diejenige war, die den Erwartungen am besten entsprochen hat, indem es ihr gelang, eine der gefürchtetsten Geißeln der Kriegschirurgie unschädlich zu machen.

Es ist jetzt obligatorisch eingeführt, das Tetanusserum bei Verletzungen anzuwenden, die mit verdächtigem Material (Erde, Schmutz, Holz-, Granaten- oder Handgranatensplittern usw.) verunreinigt waren; dank dieser Einführung gelingt es, das Auftreten des Tetanus zu vermeiden, der früher trotz der peinlichsten Desinfektionsmaßregeln nicht unterdrückt werden konnte. Die Wichtigkeit der Präventivinjektion, namentlich in der Militärchirurgie, bei allen Wunden, die mit Tetanussporen-hältigem Material infiziert wurden, ist jetzt allgemein anerkannt, so daß sie im Weltkrieg bei allen kämpfenden Heeren zur Anwendung gelangte. In der österreichisch-ungarischen Armee z. B. wurden 20 A. T. prophylaktisch injiziert und nach Ausbruch des Tetanus wurde noch therapeutisch vorgegangen. Bei der furchtbaren Katastrophe in Kalabrien und Sizilien und bei der von Avezzano wurden die Präventivinjektionen in großem Stil angewendet und die Resultate waren durchaus zufriedenstellende.

Für Präventivimpfungen beim Menschen sowohl wie beim Tier wird empfohlen 20—50 Immunisierungseinheiten nach Behring, 1500 Immunisierungseinheiten des amerikanischen Serums, 10 cm^3 des Pariser Serums oder 4 Millionen Immunisierungseinheiten des Serums von Tizzoni einzuspritzen und die Dosis nach ungefähr 10 Tagen zu wiederholen. Der Wert dieser Dosen ist derselbe, ungeachtet der verschiedenen Bezeichnungen ihrer Aktivität, nur wird die Titrierung an verschiedenen Tieren und nach verschiedenen Methoden ausgeführt.

Es ist jedoch wichtig, in jedem Falle einer Präventivinjektion eine radikale antiseptische Behandlung der Wunde vorzunehmen, weil auch wenige überlebende Sporen die Wirkung der Serumprophylaxe illusorisch machen können, indem sie sich möglicherweise erst entwickeln, wenn die Immunität wieder verschwunden ist; die Dauer der Immunität beträgt einige Wochen, aber die Sporen können länger am Leben bleiben und Tetanus verursachen, wenn das Serum schon ganz oder zum größten Teil wieder ausgeschieden ist.

Dysenterieserum.

Nach der neutralisierenden Wirkung in vitro zu schließen, müßte das Dysenterieserum nur eine geringe Aktivität entfalten können; seine therapeutische Wirkung beim Menschen ist aber unbestreitbar nicht nur größer als die des Tetanusserums, sondern auch absolut genommen so befriedigend, daß sie ihm die erste Stelle unter den Mitteln sichert, die im Kampfe gegen die bazilläre, dem Bazillus vom Typus Shiga-Kruse zuzuschreibende Dysenterie angewendet werden.

Diesem Typus gehören gerade die Stämme an, die bei den von Zeit zu Zeit in unseren Gegenden auftretenden Epidemien gefunden werden. Ohne uns in die vielumstrittene Frage einzulassen, ob das Dysenterieserum vom Typus Shiga-Kruse auch bei anderen Dysenterieformen wirkt, wie Vaillard und Dopter annehmen, oder ob es nötig ist, ein polyvalentes Serum herzustellen, wie Ruffer und Willmore es für notwendig halten und wie man es schließlich auch bei uns tat, mag bloß das eine hervorgehoben werden, daß wir in dem derzeit in Verwendung stehenden Dysenterieserum ein wirksames Heilmittel gegen die Dysenterie besitzen, die sich in einigen Gegenden Italiens eingenistet hat, wo in den heißen Monaten echte Epidemien auftreten, die genau beschrieben und studiert worden sind.

Wie Kraus und Doerr gezeigt haben, ist die Serumtherapie gegen Dysenterie eine antitoxische, weil man aus den Kulturen des Dysenteriebazillus ein Toxin erhält, das Kaninchen unter charakteristischen Lähmungserscheinungen tötet und gegen das eben das Dysenterieserum wirkt. Die mit diesem antitoxischen Serum erhaltenen Resultate sind wirklich überzeugend, weil nach der Injektion das klassische Bild der Dysenterie, charakterisiert durch Polydipsie, Abgeschlagenheit, Tenesmus, Ausscheidung von blut-, schleim- und eiterhältigen Fäzes, sich deutlich bessert, wenn es auch nicht mit einem Schlag verschwindet; im Anfangsstadium sichert es eine rasche Genesung, in einem vorgeschrittenen Stadium reduziert es die Entleerungen, erleichtert den Tenesmus und bessert den Allgemeinzustand, indem es die Vernarbung der Geschwüre beschleunigt, die jedoch natürlich eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt.

Was die einzuspritzende Dosis, sowie auch die Wertbestimmung des Serums betrifft, so gibt es dafür keine bestimmten Regeln wie bei der Serumtherapie der Diphtherie und des Tetanus. Flexner und Amoß haben sich in letzter Zeit mit der Herstellung des polyvalenten Serums befaßt, die nach ihrer Methode der raschen Immunisierung nur mehr 2 Monate dauert, da infolge des dringenden Bedarfs an Dysenterieserum von seiten der im Weltkrieg kämpfenden Heere eine beschleunigte Produktion notwendig wurde; nach ihrer Methode wird die Wertbemessung in vivo an Meerschweinchen und Kaninchen ausgeführt, indem man am ersteren Tier die antiinfektiöse, am zweiten die antitoxische Wirkung ausprobiert. Es wird zu dem Zwecke eine Suspension lebender Kulturen, resp. das Dysenterietoxin mit verschiedenen Verdünnungen des Serums gemischt, die Mischungen eine Stunde lang bei 37° erhalten und dann in die Peritonealhöhle von Meerschweinchen von 250 *g* injiziert oder aber in die Ohrvene von Kaninchen von 1250 — 1500 *g*. Es genügen 0·01 cm^3 oder auch weniger eines aktiven Dysenterieserums, um zwei minimale letale Dosen von lebenden Kulturen oder vier letale Dosen des Toxins zu neutralisieren, während man vom normalen Kontrollserum wenigstens 0·5 cm^3 braucht. Die zu injizierende Dosis soll reichlich und um so größer sein, je ernster der Fall ist; in mittelschweren Fällen können 30 bis 40 cm^3 genügen, bei schweren Formen jedoch muß man schon im Verlauf des ersten Behandlungstages 60—100 cm^3 Serum,

davon einen Teil intravenös, injizieren und die Dosis bis zur Besserung der Erscheinungen wiederholen. Natürlich wird neben der Serumtherapie diätetische und medikamentöse Behandlung durchgeführt.

Botulismus.

Auch gegen das Botulismustoxin, welches die Ursache einer besonderen Form von Fleisch- und Wurstvergiftung ist, die mit Symptomen der Bulbärparalyse auftritt und meist letal endigt, ist aus Kaninchen, Meerschweinchen, Ziegen und Pferden ein antitoxisches Serum gewonnen worden. Dieses Serum entfaltet nach Forssman im Tierversuch eine sichere Heilwirkung, während über seine Wirksamkeit beim Menschen ausgedehnte und überzeugende Erfahrungen bisher nicht vorliegen. Das Serum wird im Institut für Infektionskrankheiten in Berlin vom Pferde gewonnen und unentgeltlich zur Krankenbehandlung verausgabt.

Gasbrand-antitoxin.

In letzter Zeit ist es auch gelungen, starke und konstante Toxine von verschiedenen Typen der Gasödemstämme darzustellen, die bei intravenöser Injektion eine Maus in einigen Sekunden zu töten imstande sind. In der Folge stellte man ein Antitoxin her, das die Maus und auch das Kaninchen eben noch zu retten vermag. In der Praxis aber entsprechen die therapeutischen Erfolge den Erwartungen nicht.

Serum gegen Schlangengifte.

Von den gegen bakterielle Toxine gerichteten Antitoxinen käme eventuell noch in Betracht das Rauschbrandantitoxin, das jedoch mehr einen antibakteriellen Wert besitzt, während von den Antitoxinen gegen tierische Gifte (Kröten-, Spinnen-, Skorpionen-, Bienen-, Schlangengift) namentlich das Serum gegen Schlangengift hervorgehoben zu werden verdient. Letzteres wird von Calmette und von V. Brazil aus Pferden gewonnen, an Kaninchen oder weißen Mäusen ausgewertet und namentlich in den Tropen zur Neutralisierung der Wirkung von Schlangenbissen verwendet, wo diese häufiger vorkommen.

Pollantin.

Nachdem wir schließlich noch des bei uns wenig bekannten Pollantins — des Antitoxins des Pollengiftes (Heufiebergiftes), das bei Heufieber flüssig, in Pulver- oder Salbenform zur Anwendung kommt — Erwähnung getan, wollen wir die Antitoxine, die rein theoretisches Interesse haben, wie das gegen das Bienengift, übergehen, um uns im nächsten Kapitel den antibakteriellen Seris zuzuwenden; diese werden, da die Ernte reicher auf diagnostischem als auf therapeutischem Gebiete sein wird, uns ganz von selbst zu den diagnostischen Anwendungen der Serologie führen.

6*

Viertes Kapitel.

Antibakterielle Sera und Impfstoffe.

Streptokokkenserum. — Meningokokkenserum. — Gonokokkenserum. — Milzbrandserum. Antiblastische Immunität. — Pneumokokkenserum. — Phagozytose. Stimuline von Metschnikoff. — Opsonine und Vakzinationstherapie von Wright. — Zellular- und Humoraltheorie. — Bakterizidie. — Buchners Alexine. — Bakteriolyse. — Pfeiffersches Phänomen. — Sera und Impfstoffe gegen Typhus und Cholera. — Serumschutzimpfung.

Im vorigen Kapitel habe ich Ihnen als eine der Errungenschaften der antitoxischen Serumtherapie das Dysenterieserum angeführt. Auch gegen eine andere Erkrankung des Darmes, die Cholera, wurde ein vorwiegend antitoxisches Serum hergestellt, das in den Epidemien, die in Rußland heftig wüten, versucht worden ist. Die Resultate haben anscheinend den Erwartungen nicht entsprochen, aber dieser Versuch beweist doch, wie man stets bemüht ist, die antitoxische Serumtherapie so viel als möglich auszubreiten.

Den Anstoß zu diesen Bestrebungen gab die Exaktheit und Einfachheit der experimentellen Befunde, die nur dort bestehen kann, wo bei prophylaktischen und serotherapeutischen Versuchen an Tieren die Sekrete der Bazillen verwendet werden. Der Parallelismus zwischen der antitoxischen Wirkung der Sera und ihrem Heilwert erleichtert in außerordentlichem Maße die Aufgabe der Serumtherapie und verleiht ihr eine fast mathematische Genauigkeit. Bei den Septikämien hingegen, wo der Krankheitsverlauf untrennbar an lebende Keime gebunden ist, muß die Serumtherapie gegen weit größere Schwierigkeiten ankämpfen, wegen der Veränderlichkeit der biologischen Eigenschaften der Bazillen und der daraus folgenden Unsicherheit der experimentellen Prüfung.

Streptokokkenserum.

Die antibakteriellen Sera lassen deswegen nur ausnahmsweise eine absolute Bewertung ihrer Aktivität zu. Zum Unterschied von den bazillären Giften, wie z. B. dem Tetanustoxin,

dessen Wirksamkeit sich gleichmäßig auf Meerschweinchen, Kaninchen, Pferd und Mensch erstreckt, ist die Virulenz der septikämischen Erreger je nach der Tierspezies verschieden. Das Tetanustoxin verursacht sowohl beim Laboratoriumstier wie beim Menschen das durch Krämpfe charakterisierte Krankheitsbild. Derselbe Streptokokkus dagegen, der z. B. in einem Fall von Puerperalinfektion den Tod veranlaßt, kann beim Tierversuch ganz harmlos erscheinen; und umgekehrt kann ein für Ratten und Kaninchen pathogener Streptokokkus für den Menschen ganz gleichgültig sein.

In welcher Weise sollen wir da vorgehen, um die Wirksamkeit eines Streptokokkenserums gegenüber dem pathogenen Keim zu bestimmen? Wir werden trotz den genauesten Prüfungen, nach denen man die Schutzwirkung eines Serums gegen die Infektion bei Ratten oder Kaninchen garantieren kann, nie sicher sein, daß die Wirksamkeit, die beim Tier gegen einen für dieses Tier pathogenen Streptokokkus besteht, auch dann zutage tritt, wenn man den für den Menschen virulenten Streptokokkus bekämpfen will. Immerhin kann das Streptokokkenserum in der Medizin bei postoperativen Streptokokkeninfektionen, bei puerperaler Streptokokkämie, bei den verschiedenen Formen des Erysipels, bei den Streptokokkenanginen und Lymphangitiden subkutan oder intravenös in der Dosis von 20—50 cm^3 mit Nutzen angewendet werden. In der Veterinärmedizin gibt das Druseserum, das gegen den Streptokokkus der Pferdedruse hergestellt wird, gute Resultate, obwohl es auch nicht die Regelmäßigkeit in der Virulenz zeigt, die es ermöglichen würde, das Serum, wie vorgeschlagen wurde, am Kaninchen auszuwerten.

Meningokokkenserum.

Dieselbe Unverläßlichkeit des Laboratoriumstierversuchs macht auch die Wertbestimmung des Meningokokkenserums in vivo hinfällig; so muß man sich notgedrungen damit begnügen, seine Wirksamkeit an den Begleiterscheinungen der Reaktionen in vitro abzuschätzen, d. h. an den Präzipitinen, Agglutininen, Bakteriotropinen und an der Komplementablenkung.

Doch kann an der Heilwirkung des Meningokokkenserums kein Zweifel mehr bestehen, da die französischen, deutschen, amerikanischen und italienischen Publikationen, von beredten statistischen Zahlen unterstützt, meistens in günstigem Sinne urteilen. Der Erfolg der Serumtherapie bei der Meningitis cerebrospinalis ist innig außer an den frühen Zeitpunkt des

Einschreitens auch an die Anwendung hoher Dosen und an die intralumbale Injektion des Serums gebunden.

Intralumbale Injektion.

Dieser Einführungsweg, der bei der Behandlung des Tetanus anempfohlen wurde, ist bei der Serumtherapie der Meningitis cerebrospinalis unumgänglich nötig. Die Injektion wird mittels einer Lumbalpunktion ausgeführt; das notwendige Instrumentarium besteht aus einer Spritze, auf der ein 4 *cm* langer Gummischlauch aufsitzt, einer Hohlnadel, am besten mit einem Drehhahn aus Platiniridium, die mit einem Mandrin in der



Fig. 6. (Aus Jochmanns Infektionskrankheiten, Verlag Springer, Berlin.)

Dicke von 2—3 *mm*, und der Länge von 10 *cm* für Erwachsene, 6 *cm* für Kinder versehen ist. Die Punktion des Rückenmarkskanals erfolgt genau in der Mitte, entsprechend dem dritten (auch zweiten oder vierten) Zwischenraum zwischen den Dornfortsätzen im Rücken, der sich auf der Verbindungslinie der Cristae iliacae befindet. Man legt den Kranken auf die linke Seite, in Kyphose, desinfiziert die Haut mit Alkohol und Äther und beschickt die Spritze mit dem Serum, das eine Temperatur von 37° hat. Bei der Einführung der Hohlnadel in eine Tiefe von ungefähr 5 *cm* hört plötzlich der Widerstand der Gewebe auf, das ist das Zeichen, daß die Spitze die Rückenmarkshöhle erreicht hat; man entfernt dann den Mandrin, läßt eine Menge Zerebrospinalflüssigkeit abfließen, die dem zu injizierenden Serum entspricht, setzt die Spritze mittels des Gummischlauches auf und schiebt den Kolben vorsichtig und langsam vor, indem man bei ausgesprochenem Widerstand sofort innehält. Nach der Injektion wird ein Wattebausch aufgelegt, das Kissen fortgenommen und das Becken gehoben, um das Abfließen der Flüssigkeit aus dem Einstichkanal zu verhindern. Die Dosis des Serums schwankt beim Erwachsenen zwischen 30—50 *cm*³, bei Kindern genügen meist 20 *cm*³. Man halte sich jedoch vor Augen, daß eine einzige Injektion selten zur Heilung ausreicht, sondern

Intradural-injektion.

daß zwei bis drei oder auch mehr nötig sind, bis die Zerebrospinalflüssigkeit sich klärt.

Nach der maßgebenden Ansicht von Flexner, der über tausend mit polyvalentem Serum aus dem Institut Rockefeller behandelte Fälle einer kritischen Analyse unterzog und die Immunität der Pferde durch Meningokokkenstämme aus dem zu bekämpfenden Seuchenherd verstärkte, vermindert die Intralumbalinjektion die Dauer der Krankheit, verhindert die Entwicklung chronischer Formen, macht die Folgeerscheinungen leichter, wenn sie auch keine restitutio ad integrum erzielen kann und verringert die Zahl der Todesfälle.

Gonokokkenserum.

Ebenso steht es mit dem Gonokokkenserum; spritzt man eine Dosis von 10 cm^3 4—6 Tage hintereinander ein, so gibt es überzeugende Resultate (die jedoch zuweilen durch sekundäre Wirkungen auf den Puls gestört erscheinen) bei den Komplikationen (Orchitis, Epididymitis usw.), der Blennorrhagie, wenn auch nicht bei der blennorrhagischen Urethritis; da aber das Problem der Wertbemessung in vivo derzeit noch nicht vollkommen gelöst ist — trotz einzelner, gleich zu besprechender Versuche an Kaninchenaugen —, muß man sich wie beim Meningokokkenserum mit dem Versuch in vitro begnügen.

Technik der Wertbemessung in vivo.

Zur Wertbemessung in vivo injiziert man in die vordere Augenkammer eines Kaninchens eine kleine Menge einer Gonokokkenemulsion, worauf sich in kurzer Zeit eine schwere Augenentzündung mit Iridozyklitis, Synechien und Hypopyon entwickelt. Macht man nun 24 Stunden nach der Bakterieneinspritzung eine Injektion von 3 cm^3 eines Gonokokkenserums, so wird die eben geschilderte Erkrankung gemildert und es tritt sogar nach 4—6 Tagen Heilung ein.

Milzbrandserum.

Glücklicherweise zeigt eine klassische bakterielle Infektion, bei der das Krankheitsbild nicht auf lösliche toxische Produkte oder unlösliche Endotoxine, sondern einzig und allein auf den lebenden Bazillus zurückzuführen ist, nämlich der Milzbrand, eine vollkommene Übereinstimmung der experimentellen Ergebnisse mit denen der natürlichen Infektion. Die Virulenz des Bacillus anthracis zeigt keine Sprunghaftigkeit und Veränderlichkeit je nach der Tierart; die Aktivität des Milzbrandbazillus erstreckt sich gleichmäßig auf den Menschen und auf die meisten Tiere (Rind, Schaf, Meerschweinchen, Kaninchen), die gegen diese Infektion überhaupt empfindlich sind. In gleicher Weise ist auch ein für eine Spezies abgeschwächter Keim für die anderen weniger wirksam; der Milzbrandbazillus weist also

auch in biologischer wie in morphologischer Beziehung klassische, typische, regelmäßige Eigenschaften auf.

Daher stellen sich beim Milzbrandserum nicht die Bewertungsschwierigkeiten ein, die die Beurteilung der anderen antibakteriellen Sera so unsicher machen. Sein Schutzwert, welcher sich beim Meerschweinchen nach der unten angegebenen Methode in exakter Weise bestimmen läßt, bietet uns einen mathematisch genauen Maßstab seiner Wirksamkeit beim Menschen und Rinde. Diese kann auf Grund des Grades des Schutzes bemessen werden, die das Serum einem Meerschweinchen gegen eine für diese Tierart sicher letale Dosis des Milzbrandvirus verleiht.

Wertbestimmung.

Die Dosierung erfolgt nach A. Ascoli unter Verwendung eines abgeschwächten Milzbrandstammes, einer Vakzine, welche Meerschweinchen von 350 *g* Gewicht bei subkutaner Einspritzung von 0·25 cm^3 einer Hühnerbouillonkultur in 2—3 Tagen zu töten vermag.

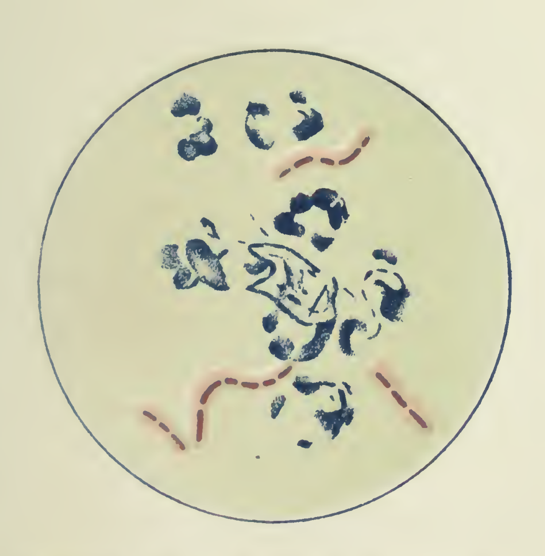
Zur Wertbemessung braucht man 4—6 Meerschweinchen für jedes Serum; vorher muß der Kontrollversuch mit dem abgeschwächten Stamm, den man zur Wertbestimmung verwenden will, ausgeführt werden. Es genügt nicht, daß der Stamm regelmäßig in 2—3 Tagen nach der Einimpfung der Impfdosis von 0·25 cm^3 der Bouillonkultur das Tier tötet, so daß er anscheinend eine genügende Virulenz besitzt, um die Kontrolltiere zu töten, sondern er muß auch der zweiten Anforderung entsprechen, daß von 6, resp. 4 Meerschweinchen, die 24 Stunden vorher eine intraperitoneale Schutzinjektion von 2 cm^3 schon ausgewerteten Milzbrandserums erhalten haben, 6 Tage nach der Injektion des Impfstoffes wenigstens 4, resp. 3 am Leben geblieben sind. Die Auswertung des Serums geschieht an 4—6 Meerschweinchen, von denen jedes zuerst 2 cm^3 des auszuwertenden Serums intraperitoneal und nach 24 Stunden die ausprobierte Impfdosis subkutan erhält.

Zu veterinär-ärztlichen Zwecken ist nur ein solches Serum gebrauchsfähig, das mindestens vier, bzw. drei der so behandelten Tiere über 6 Tage zu schützen vermag, während die Kontrolltiere nach spätestens 3—4 Tagen eingehen. Zu Schutz- und Heilzwecken beim Menschen werden hingegen jene Sera reserviert, welche unter Einhaltung der gleichen Bedingungen die Meerschweinchen schon bei einer Dosis von 0·5—1 cm^3 am Leben erhalten.

Aus den Statistiken geht in der Tat unwiderleglich hervor, daß die von Sclavo eingeführte Serumtherapie gegen Milzbrand die Sterblichkeit an Milzbrand in Italien von 24·16% der Befallenen auf 6·9% in den ersten Jahren und auf 5·3% in den Jahren 1903—1906 herunterdrücken konnte. Wer die ausgezeichneten, mit dem Serum z. B. in den Roßhaarfabriken erzielten Erfolge kennt, wo es die Befallenen ohne Ausnahme zu



Milzbrandbazillen, auf Agar gewachsen.
(Methylenblaufärbung)



Milzbrandbazillen, in Organismus zur Entwicklung gelangt.
(Keimlinge)

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Verlag von J. Šafář in Wien u. Leipzig.



retten vermag, kann nicht umhin, seine Anwendung beim Menschen wärmstens zu empfehlen.

Antiblastische Immunität.

Auch bei der Analyse des Wirkungsmechanismus dieses Serums begegnet man keinen unüberwindlichen Schwierigkeiten. Wenn der Milzbrandbazillus in den Organismus eindringt, umgibt er sich mit einer Kapsel, die mit Methylenblau eine spezifische charakteristische metachromatische Rosafärbung annimmt, während der Bakterienleib größer und dicker wird und sich mit Methylenblau tiefblau färbt: im Gegensatz dazu erscheint der auf gewöhnlichem Nährboden gewachsene Bazillus dünner und färbt sich mit Methylenblau schwächer blau (Tafel I).

Das Aussehen des im Organismus zur Entwicklung gelangten Bazillus unterscheidet sich so deutlich von dem gewöhnlichen, daß diese Formen als Keimlinge bezeichnet wurden, um sie von den kulturellen Formen, die auf den gewöhnlichen Nährboden beobachtet werden, zu unterscheiden. In dem durch Milzbrandserum geschützten Organismus treten nun die Keimlinge nicht auf. Das Serum verhindert, wie ich zeigen konnte, ihre Entwicklung, indem es eine antiblastische (βλάστη = Keimling) Wirkung ausübt, die dahin gerichtet ist, die Bildung dieser Formen, an die die Pathogenität des Bacillus anthracis gebunden ist, zu hemmen.

Auch beim Pneumokokkus versuchte man die Theorie der antiblastischen Immunität praktisch anzuwenden, aber ohne endgültige Resultate, vielleicht wegen der Anlage des Versuchs, die die Probe in vivo durch die in vitro ersetzen wollte. Die Serumtherapie gegen den Pneumokokkus aber scheint auf dem besten Wege zu sein; von den vier Typen des Pneumokokkus, die die Amerikaner unterscheiden, scheint einer der beiden, die für die meisten Diplokokkenpneumonien verantwortlich zu machen sind, wirksam mittels des entsprechenden Immunserums bekämpft werden zu können; den amerikanischen Forschern zufolge zeigt sich eine auffallende Übereinstimmung zwischen den therapeutischen Erfolgen beim Menschen und den prophylaktischen bei der Maus, die jedoch auf den dort als Typus I bezeichneten Pneumokokkus beschränkt sind.

Phagozytose

Die am meisten charakteristische Erscheinung bei der Mehrzahl der septikämischen Prozesse ist die Phagozytose; wenn in einem Organismus ein akuter Infektionsprozeß auftritt, der auf Pneumokokken, Streptokokken oder Staphylokokken

zurückzuführen ist, so sind die Leukozyten die Schutztruppe, die der Organismus gegen die Keime mobilisiert. Sie strömen zu der bedrohten Stelle hin, umzingeln die Bakterien und nehmen sie mittels amöboider Bewegungen in sich auf, indem sie so die Invasion aufzuhalten suchen; wenn die Phagozytose intensiv ist, so daß sie z. B. zur Bildung eines Abszesses führt, so überwindet der Organismus gewöhnlich die Infektion, ist sie jedoch schwach und ungenügend, so unterliegt er.

Diesen Vorgängen der Phagozytose schreibt Metschnikoff eine fundamentale Bedeutung für den Ausgang der Infektionskrankheiten überhaupt zu. Um seine Behauptung, daß die Widerstandsfähigkeit oder Empfänglichkeit eines Organismus und der Ausgang einer Infektion in erster Linie von der bakteriziden Aktivität der Leukozyten abhängt, zu stützen, hat Metschnikoff im Laufe der Jahre mit unermüdlichem Eifer eine stattliche Anzahl von Versuchen ausgeführt, die er mehrmals, auch in seiner Rede gelegentlich der Verleihung des Nobelpreises, zusammenfassend darstellte. Die Phagozytentheorie Metschnikoffs ist äußerst einfach. Diesem hervorragenden Gelehrten zufolge ist die antibakterielle, natürliche oder künstlich erzeugte Immunität gewissen Zellen des Mesoderms zuzuschreiben, die wegen ihrer Fähigkeit, die Bazillen in sich aufzunehmen, Phagozyten genannt werden. Bei akuten Prozessen sind es die polynukleären Leukozyten, die infolge der von den bakteriellen Produkten ausgelösten positiven Chemotaxis aus den Gefäßen austreten und herbeieilen, um die Bakterien mittels eines in ihnen enthaltenen Ferments, der Mikrozytase, zu zerstören. Bei chronischen Prozessen oder solchen, die darauf gerichtet sind, die zellulären Elemente aufzunehmen, fällt diese Aufgabe den mononukleären Zellen zu, die mittels einer Makrozytase wirken. Die zahlreichen von Metschnikoff und seinen Anhängern angestellten Untersuchungen zeigten das Vorkommen der Phagozytose bei einer Reihe von infektiösen Prozessen — Tuberkulose, Rotlauf, Milzbrand, Cholera, Typhus etc. — womit die allgemeine Verbreitung dieses Verteidigungsmittels bewiesen war.

Stimuline.

In Übereinstimmung mit diesen Ansichten stellte daher Metschnikoff die antibakteriellen Sera, d. h. die Träger der Immunität gegen die Bakterien, den antitoxischen Seris gegenüber und nahm an, daß jene nur dadurch Immunität

bewirken, daß sie die phagozytäre Aktivität steigern. Die antibakteriellen Sera enthalten nach Metschnikoff spezifische „Stimuline“ für die Leukozyten, die ihre bakterientötende Kraft erhöhen. Die Suche nach diesen von Metschnikoff angenommenen „Stimulinen“ blieb jedoch erfolglos; die Phagozyten immuner Tiere zeigten sich nicht aktiver als die normaler, noch war ihr Serum imstande, die phagozytäre Wirkung der Leukozyten im geringsten zu fördern.

Im Verlaufe der Untersuchungen, die die Richtigkeit der Metschnikoffschen Hypothese bestätigen sollten, konnte allerdings festgestellt werden, daß in Wirklichkeit die Phagozytose im geschützten Organismus lebhafter ist, ebenso wie auch in vitro, wenn man der Emulsion der Bakterien und Leukozyten das spezifische Immunserum an Stelle des entsprechenden normalen Serums zusetzt. Aber die Phagozytose ist nicht deshalb intensiver, weil die Aktivität der Phagozyten gesteigert ist, sondern weil das Bakterium von seinem antagonistischen Serum derart verändert und gelähmt wird, daß es leichter die Beute der Leukozyten wird. Das antibakterielle Serum wirkt also nicht auf die Leukozyten, sondern auf die Bakterien ein. In den antibakteriellen Seris sind nämlich spezifische Substanzen enthalten, die sich an das antigene Bakterium verankern, ohne es zu töten oder irgendwo morphologisch zu verändern, die es aber doch auf die Wirkung der Phagozyten vorbereiten, so wie das Kochen das Fleisch und die Nahrungsmittel überhaupt auf die Wirkung der Verdauungssäfte vorbereitet.

Opsonine.

Diese spezifischen Stoffe, die die Bakterien so zubereiten, daß die Phagozyten sie verdauen können, wurden Opsonine (ὀψονέω = ich bereite zum Genuß vor) genannt. Schon im normalen Serum bestehen solche Opsonine, so wie auch im normalen Serum Antitoxine in geringem Maße enthalten sind. Sie vermehren sich im Verlaufe der Immunisierung gegen die Bakterien, so daß das antibakterielle Serum reicher ist an Opsoninen, ähnlich wie das antitoxische reicher ist an Antitoxinen, als das entsprechende normale Serum. Die Opsonine sind auch spezifisch, d. h. ganz genau auf die antigenen Keime abgestimmt, aber in einer noch strenger spezifischen Weise als die Antitoxine; während diese die entsprechenden Toxine neutralisieren, welchen Ursprungs auch immer sie seien, wirken die Opsonine vorzugsweise auf den bei der Immunisierung verwendeten Stamm.

Diese engbegrenzte Spezifität erklärt uns, warum gewisse antibakterielle Sera, wie das Streptokokken- und das Staphylokokkenserum in der Praxis nicht immer die erwarteten Resultate geben. Die Opsonine oder Bakteriotropine, wie sie von deutschen Forschern genannt wurden, die also das Reaktionsprodukt des antibakteriellen Immunisierungsprozesses darstellen, sind in einer so exakten Weise auf ihren antigenen Stamm eingestellt, daß sie ihre antagonistische Wirkung nur auf diesen ausüben und nicht auch auf andere Stämme derselben Spezies.

Polyvalente Sera.

Diese Anschauungen finden ihren Ausdruck in der Anwendung der sogenannten polyvalenten Sera, das sind solche, die von mit möglichst vielen Stämmen immunisierten Tieren stammen. In der Tat ist es sehr leicht denkbar, daß unter den vielfachen auf die verschiedenen Keime eingestellten Reaktionsprodukten, die in diesen Seris enthalten sind, auch Opsonine oder Bakteriotropine sich vorfinden mögen, die gerade gegen den Erreger des infektiösen Prozesses wirksam sind, bei dem man das Serum anwendet.

Wrightsche Vakzinen.

Die rationellste Anwendung der angeführten Theorien fand Wright in dem nach ihm benannten Vakzinationsverfahren. Wright will die antibakterielle Serumtherapie durch die aktive Vakzination ersetzen, aber er macht es von neuen Gesichtspunkten aus und mit originellen Methoden. Bei den Strepto- und Staphylokokkeninfektionen und bei verschiedenen anderen Krankheitsformen bakteriellen Ursprungs isoliert er vor allem den pathogenen Stamm des Kranken selbst, um daraus den autogenen Impfstoff zur Immunisierung herzustellen, und verfolgt aufmerksam ihren Verlauf, indem er den Opsoningehalt des Patientenserums periodisch untersucht.

Autogene Vakzine.

Wrights Vakzinationstherapie ist im Grunde bloß eine Modifikation der bekannten Pasteurschen Impfungen, die von ihm mit großem Scharfsinn und besonderen Vorsichtsmaßregeln, wie sie der spezielle Fall und der Wert des menschlichen Individuums erheischen, auf den Menschen übertragen wurden. Ihr Bestreben geht dahin, den Organismus mit spezifischen Kampfmitteln gegen den pathogenen Erreger auszurüsten und dabei alle Anlässe zu Mißerfolgen und Vakzinationszufällen, die bei der Pasteurschen Vakzination unvermeidlich, dort übrigens auch unwesentlich sind, sorgfältig zu verhüten. Die Pasteursche Vakzinationsmethode gegen Milzbrand und Rotlauf bei

Tieren bedient sich zwar abgeschwächter, aber lebender Kulturen, die daher imstande sind, bei besonders empfindlich veranlagten Tieren schwere Erkrankungen, selbst den Tod hervorzurufen. Aber das Zugrundegehen eines Tieres hat wenig zu bedeuten, wenn nur die Gesamtresultate eine Verminderung der Morbidität und Mortalität zeigen. Die Pasteursche Vakzination wird mit klassischen Stämmen ausgeführt, ohne daß man sich damit befaßt, den Organismus mit Immunisierungsprodukten gegen den einen oder anderen Stamm im besonderen anzureichern; so manches immunisierte Tier wird vielleicht auf einen pathogenen Keim geraten, der gegen die spezifische, vom Vakzinationsstamm ausgelöste Gegenwirkung wenig empfindlich ist und somit trotz der Vakzination eingehen.

In der Veterinärpraxis werden diese Übelstände für den einzelnen Eigentümer, der das Unglück hat, ein oder gar mehrere Tiere zu verlieren, von Bedeutung sein, aber sie werden im Vergleich mit der außerordentlichen Zahl guter Resultate, die die allgemeinen Statistiken zeigen, verschwinden; auch genügen sie nicht, um uns zu bestimmen, in der Veterinärpraxis von den bewährten Pasteurschen Impfstoffen, bestehend aus abgeschwächten typischen Keimen, abzugehen, da das Wrightsche Verfahren mit dem abgetöteten Krankheitserreger zwar sicherer, aber viel komplizierter ist.

Die Vakzinationstherapie nach Wright ist eine rationelle, vorsichtige, kausale Behandlungsmethode gewisser Formen von Staphylokokken-, Streptokokken- und Bacterium coli-Infektionen, die jeder anderen Behandlung trotzen. Die Menge des Impfstoffes und der Zeitpunkt der Einverleibung werden mathematisch genau nach Zahlen reguliert, die das Reaktionsstadium des vakzinierten Organismus ausdrücken.

Opsonischer Index.

Als Indikator dient der opsonische Index, der in Zahlen die Fähigkeit des Krankenserums, die Phagozytose zu befördern im Vergleich zur analogen Fähigkeit des Normalserums ausdrückt. Er wird bestimmt durch das Verhältnis des phagozytären Vermögens der Leukozyten gegenüber dem pathogenen Keim in Gegenwart des Krankenserums, zu dem eines als Vergleichsobjekt dienenden normalen Serums. Diese Verhältniszahl wird gleich eins sein, wenn die Zahl der von jedem Leukozyten aufgenommenen Keime für beide Sera gleich ist; sie wird größer als eins sein, wenn der Durchschnitt der aufgezehrten Keime beim

Serum der Kranken größer ist, und kleiner als eins, wenn dieser Durchschnitt geringer ist als beim normalen Serum. Die Bestimmung des opsonischen Index ist der springende Punkt der Wrightschen Methode und dieser Forscher hat eine Reihe von sinnreichen technischen Kunstgriffen ersonnen, um sie rasch vornehmen und mehrmals am Kranken wiederholen zu können. So hat er eine besondere Pipette zur Serumentnahme konstruiert, hat den klassischen Vorgang bei der Zählung der Keime vereinfacht, hat eine Vereinfachung der Bakterienberechnung erfunden, wobei er bestrebt war, die Opsoninbestimmung mit möglichst geringer Belästigung des Kranken und möglichst wenig Zeitverlust für den Untersucher durchzuführen.

Bestimmung des opsonischen Index.

Zur Bestimmung des opsonischen Index ist erforderlich:

1. das Serum des betreffenden Kranken;
2. normales Kontrollserum (vom Menschen);
3. gewaschene Leukozyten;
4. die zur Bestimmung des opsonischen Index dienende Bakterienemulsion.

Sowohl das Krankenserum wie das Kontrollserum gewinnt man durch Einstich in den Finger nahe der Nagelwurzel, nachdem man durch Abbinden das Blut im Nagelglied gestaut hat. Die austretenden Blutstropfen werden in einem besonderen Glasröhrchen (Fig. 7) aufgefangen. dessen Kapillarenden vor dem Gebrauch beiderseits abzubrechen sind. Auf einem kleingestellten Bunsenbrenner wird hierauf erst das gerade und nach einigen Minuten auch das gekrümmte Ende des Röhrchens zugeschmolzen, worauf das Blut gerinnt und das Serum sich ohneweiters davon abscheidet. Die Abscheidung kann eventuell durch Zentrifugieren beschleunigt werden.



Fig. 7.

Selbstverständlich kann die Gewinnung des Blutes auch mit der Spritze oder nach den bekannten Methoden erfolgen. Zur Gewinnung der gewaschenen Leukozyten werden einige (10—15) Blutstropfen eines gesunden Individuums in ein kleines Glasröhrchen gebracht. das zu $^{2}/_{3}$ mit einer, jedesmal frisch herzustellenden, 1·5%igen Lösung von zitronensaurem Natron gefüllt ist, und ohne zu schütteln gemischt. Dann werden die Blutkörperchen abzentrifugiert, die klare Flüssigkeit abgegossen und durch 0·85% Kochsalzlösung ersetzt, worauf neuerdings zentrifugiert wird. Man entfernt die Hauptmasse der Kochsalzlösung, verteilt die Blutkörperchen durch Schütteln in den Rest der Flüssigkeit und hat hiemit die gebrauchsfertige Aufschwemmung hergestellt, die natürlich jedesmal erneuert werden muß, da sich schon nach mehrstündigem Stehen die Zellen verändern.

Die Emulsion der Bakterien, gegen welche das opsonische Vermögen des Serums bestimmt werden soll, muß je nach der in Betracht kommenden Bakterienart verschieden hergestellt werden. Beim Kochschen Bazillus z. B. ist eine besonders sorgfältige Technik erforderlich, da eine genaue Zählung nur dann möglich ist, wenn auf je einen Leukozyten im Präparat nur 1—2 Tuberkelbazillen kommen. Um eine geeignete Emulsion zu erhalten, ist es daher ratsam, eine geringe Menge abgetöteter, getrockneter Bazillen in einem Achatmörser zu einem feinen Pulver zu zerreiben und nach und nach tropfenweise 1·5%ige Kochsalzlösung zuzugeben, bis eine dickflüssige Emulsion entsteht, die dann eine Stunde lang bei 60° sterilisiert wird. Sie kann am besten in einem Glasröhrchen, dessen unteres, geschlossenes Ende dünn ausgezogen ist, aufbewahrt werden, aus dem sie zu jeweiligem Gebrauche wiederholt entnommen werden kann, indem man jedesmal das Ende abfeilt und nach Entnahme der erforderlichen Menge an der Flamme wieder zuschmilzt.

Von anderen Bakterienarten benützt man gewöhnlich eine Öse einer 24stündigen Agarkultur, verreibt sie in wenigen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung und verdünnt dann durch weiteren Zusatz dieser Flüssigkeit. Bei koliartigen Kokken und bei gramnegativen Bakterien sind zweckmäßig 4—10 Stunden alte Kulturen zu benützen. Bei gramnegativen Kokken empfiehlt es sich, 1·5%ige Kochsalzlösung wie bei den Tuberkelbazillen als Verdünnungsflüssigkeit zu verwenden, Streptokokkenemulsionen soll man kräftig schütteln, damit sie sich homogen verteilen, und zur Entfernung von Bakterienanhäufungen kurz zentrifugieren und von dem Bodensatz vorsichtig abgießen.

Die Bakterienemulsion ist vor dem Gebrauch auf ihren Bazillengehalt zu prüfen, der nach Wright ungefähr 7—10 Milliarden im cm^3 betragen soll. Dies geschieht, indem man eine kleine Menge Emulsion mit einer gleichen Menge Blut mischt und einen Tropfen der Mischung auf dem Objektträger ausstreicht, fixiert und färbt. Da 1 cm^3 Blut etwa 5 Milliarden Erythrozyten enthält, so müßten dementsprechend auf je ein rotes Blutkörperchen im Gesichtsfeld durchschnittlich zwei Bakterien kommen. Falls deren Anzahl eine größere ist, soll die Emulsion entsprechend verdünnt werden.

Die Bestimmung des opsonischen Index erfolgt dann so, daß Serum, Bakterien und Blutkörperchen gemischt werden und nach Verweilen der Mischung im Brutschrank das Resultat der Phagozytose im gefärbten Präparat festgestellt wird.

Je ein Teil Serum, ein Teil Bakterienemulsion und ein Teil gewaschene Blutkörperchen werden zu diesem Zwecke in eine mit einer Saugkappe versehene Pipette nach Pasteur von ungefähr 16 *cm* Länge aufgesogen. Man geht folgendermaßen vor: es wird an der Kapillare etwa 2—3 *cm* ober dem Ende mit dem Fettstift oder mit der Feder eine Marke angebracht, zunächst mittels der Saugkappe das zu prüfende Serum bis zu dieser Marke angesaugt, hierauf etwas Luft nachgesaugt; dann folgt — wieder bis zur Marke — die Blutaufschwemmung, neuerdings etwas Luft und schließlich die Bakterienemulsion. Der Inhalt der Kapillare wird nunmehr sofort auf einen Objektträger ausgeblasen und

durch mehrmaliges Aufsaugen und Ausstoßen gut durchgemischt. Zuletzt wird die Mischung wieder aufgesogen und das untere Ende an einer kleingestellten Flamme zugeschmolzen, natürlich ohne den Inhalt des Röhrchens zu erhitzen. In genau der gleichen Weise wird auch die Kontrolle mit dem normalen Serum angestellt.

Die gefüllten Kapillaren kommen nun in den Brutschrank, und zwar Staphylokokken und Streptokokken 10—15 Minuten, Tuberkelbazillen 20—25 Minuten, Typhusbazillen und Bacterium coli 6—7 Minuten.

Dieser Zeitraum dient zur Reinigung und Kennzeichnung von Objektträgern und Bereitung von „Ausbreitern", die durch Abschmelzen gewöhnlicher Deckgläschen an einer Seite derart, daß diese eine bogenförmige Krümmung erhält, hergestellt werden.

Nach Ablauf dieser Zeit nimmt man die Kapillarröhrchen aus dem Brutschrank, bricht das zugeschmolzene Ende ab und befördert mit Hilfe der Gummikappe den Inhalt auf saubere gut entfettete Objektträger, wo er dann mittels eines „Ausbreiters" ohne Druck ausgestrichen wird. Am Ende des Ausstriches, wo die Schicht am dünnsten ist, liegen erfahrungsgemäß die meisten Leukozyten beisammen. Nach Trocknen an der Luft, fixiert man das Präparat 2—3 Minuten in Sublimat oder Alkoholäther, spült dann in Wasser ab und färbt mit Methylenblau oder Karbolthionin. Tuberkelbazillenpräparate werden mit Ziehlscher Lösung gefärbt, in 2%iger Schwefelsäurelösung entfärbt, dann mit 4%iger Essigsäure behandelt und mit Methylenblau nachgefärbt.

Man zählt hierauf unter dem Mikroskop die in 50 Leukozyten aufgenommene Bakterienzahl; übersprungen werden jedoch die Blutkörperchen, welche haufenweise Keime enthalten, da es sich in diesen Fällen nicht um eine opsonische Wirkung, sondern um spontane Phagozytose handelt. Die Zahl der von 50 Leukozyten des Krankenserums phagozytierten Bakterien, geteilt durch die Keimzahl der von ebenfalls 50 Leukozyten des Kontrollserums phagozytierten Bakterien ergibt den opsonischen Index. Z. B.:

Krankenserum

2	1	0	2	0	3	3	6	7	2	26	
5	4	4	2	2	0	0	8	2	2	29	
3	0	6	8	2	5	3	8	3	0	38	
5	1	1	2	0	0	1	2	4	2	18	
4	0	1	5	6	0	5	0	2	1	24	135

Kontrollserum

4	3	0	1	0	1	7	4	1	4	25	
0	0	4	4	7	2	1	0	2	1	21	
2	1	0	2	8	4	1	0	1	4	23	
4	3	1	0	0	1	7	4	1	4	25	
0	0	4	4	7	2	1	0	2	1	21	115

$$\text{opsonischer Index} = \frac{135}{115} = 1{\cdot}17.$$

Es ist Wright gelungen, zu beweisen, daß der opsonische Index bei der Tuberkulose kleiner als eins ist, daß er aber im Verlaufe einer rationellen Tuberkulinkur steigerungsfähig ist. Auf jede Tuberkulininjektion — wie übrigens auf jede Einspritzung seiner Impfstoffe — folgt eine negative Phase, während welcher die Opsonine des Serums unter die Norm sinken. Es tritt jedoch dann ziemlich rasch die positive Phase ein mit höheren Werten als die normalen, und dies ist der günstigste Moment, um die Injektion zu wiederholen. Die Mißerfolge des Tuberkulins waren

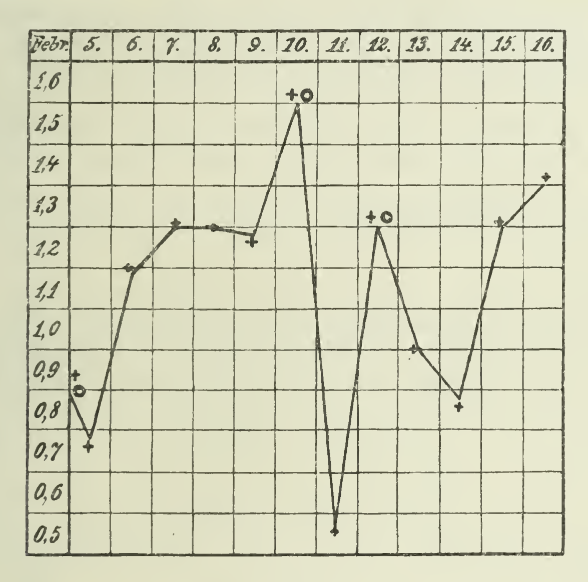


Fig. 8.

Vakzination und Bestimmung des opsonischen Index nach Wright.

\+ Opsonischer Index. o Injektion der Vakzine.

nach Wright einer unüberlegten Anwendung und der empirischen Dosierung zuzuschreiben. Wright verfolgte genau die opsonischen Kurven der Tuberkulösen, die sich einer Tuberkulinkur unterzogen und achtete darauf, die Injektion erst nach Eintritt der positiven Phase zu wiederholen und die Dosen auf Grund der Dauer der negativen Phase zu bestimmen; so gelang es ihm, die Tuberkulinkur wieder zu Ehren zu bringen und den früheren Empirismus durch präzise mathematische Werte zu ersetzen, um den Verlauf der tuberkulösen Prozesse verfolgen zu können. Was die autogenen Impfungen zu Heilzwecken nach

Wright betrifft, so bricht sich jetzt eine neue Art prophylaktischer Impfung Bahn; sie beruht auf einer Theorie, wonach der Organismus aktiv immunisiert werden soll, und zwar statt mit einem Impfstoff aus Keimen des Kranken mit Bakterienstämmen, die in dem endemischen Krankheitsherd, von dem der Fall stammt, vorherrschen. So haben z. B. die Amerikaner gegen die Lungenentzündungen, die alljährlich in den Bergwerken des Transvaal viele Opfer forderten, und die militärischen Lager der Vereinigten Staaten bedrohten, mit sehr guten Resultaten einen Impfstoff ausprobiert, der aus den zwei Stämmen des Pneumokokkus (I u. II) hergestellt wird, welche als vorherrschende Erreger der Infektion erkannt wurden.

Pneumokokkenvakzine.

Die Meinungen über den Wert der Wrightschen Opsonintechnik sind noch heute geteilt, doch dürften die Differenzen darauf zurückzuführen sein, daß die von Wright für unerläßlich gehaltenen Maßnahmen von vielen Forschern nur zum Teil befolgt wurden.

Vakzinationstherapie.

Einer sehr ausgedehnten Verbreitung erfreut sich hingegen die Wrightsche Vakzinationstherapie bei chronischen Infektionen durch Staphylokokken, Streptokokken, Gonokokken usw. Unter den Staphylokokkeninfektionen ist für die Vakzination hauptsächlich die Furunkulose geeignet, es wurden aber auch Sykosis, Ekzem, Otitis media, ferner Mastitis, Osteomyelitis und Abszesse, soweit sie auf Staphylokokken zurückzuführen sind, erfolgreich behandelt. Bleiben auch die Impfstoffe aus Laboratoriumskeimen (Stockvakzinen) unwirksam, so nützen doch oft Impfstoffe, die aus den vom kranken Organismus isolierten Mikroorganismen gewonnen wurden (Autovakzinen). So sind der Wrightschen Behandlung auch die Prozesse zugänglich, die durch Streptokokken hervorgerufen werden, wie die Phlegmonen, das Erysipel, die Lymphangitiden, die Sekundärinfektionen der Tuberkulose und die puerperalen Prozesse, soweit sie Streptokokken zur Ursache haben.

Die autogene Vakzinetherapie hat ferner Erfolge erzielt bei Infektionen durch Bacterium coli, Bakterium Friedländer, Influenzabazillen, Keuchhusten, Maltafieber usw.; die Ergebnisse sind nicht ständig, sondern nur ausnahmsweise durch den opsonischen Index kontrolliert worden, aber waren immerhin in rein klinischer Hinsicht einwandfrei festzustellen.

Technik der Herstellung der Wrightschen Vakzine.

Herstellung des Wrightschen Impfstoffs.

Die Herstellung des Wrightschen Impfstoffs geschieht prinzipiell bei allen Bakterienarten auf die gleiche Weise, und zwar nach folgenden technischen Grundsätzen:

A. Isolierung und Züchtung des Krankheitserregers.

1. Nach den bakteriologisch allgemein gültigen Regeln wird der Krankheitserreger entweder direkt durch ein Ausstrichpräparat aus dem Eiter (Hautmykosen, Pusteln, Fisteln usw.) oder durch Hämokultur (Infektionskrankheiten) isoliert.

2. Als Nährboden dient gewöhnliches Agar mit Zusatz von Aszitesflüssigkeit, Kaninchen- oder Taubenblut, Pferde- oder Rinderserum, je nach der Art des Erregers, den man nach der klinischen Untersuchung annehmen muß. Handelt es sich um Mischinfektionen, so muß man das Plattenverfahren oder das Tierexperiment anwenden.

3. Man muß sich überzeugen, daß es sich wirklich um eine Reinkultur handelt.

4. Die verwendete Kultur soll bei Koli-Infektionen 12 Stunden, bei Staphylokokken 1—2 Tage, bei Strepto- und Pneumokokken 2—3 Tage alt sein.

Nach diesen Grundsätzen kann man eine autogene Vakzine herstellen; sollte die Isolierung des Krankheitserregers auf Schwierigkeiten stoßen und Eile not tun (wie zum Beispiel bei der Pneumokokkenvakzinetherapie, wo eine sofortige Injektion indiziert sein kann), so verwendet man einstweilen Laboratoriumskulturen des betreffenden Keimes (Stockvakzine oder heterogene Vakzine des Handels).

B. Aufschwemmung der Kultur.

Man verwendet Schrägagar und setzt diesem mittels einer sterilen Pipette 10 cm^3 steriler physiologischer NaCl-Lösung zu, dann schiebt man den Kulturrasen vorsichtig mit der Öse in die Salzlösung hinein, wodurch eine Bakterienemulsion in der Kochsalzlösung entsteht. Diese wird in ein steriles Reagensrohr gegossen, einige Male vorsichtig geschüttelt (ohne den Wattepfropfen zu benetzen) und dann 15—30 Minuten stehen gelassen, damit sich die größeren Bakterienklümpchen absetzen.

C. Abtötung der Kultur.

Der Inhalt des Reagensrohrs wird eine Stunde bei 60° im Wasserbad sterilisiert.

D. Sterilitätsprobe.

Man impft auf ein Agar- und ein Bouillonröhrchen je einen Tropfen der sterilisierten Kultur über und gibt die Röhrchen auf 24—48 Stunden in den Brutschrank; bleiben diese steril, so kann man die Kultur unbedenklich zu therapeutischen Zwecken verwenden, tritt hingegen auf den geimpften Nahrboden Bakterienwachstum ein, so müssen die Sterilisierung bei 60° und die Sterilitätsprobe wiederholt werden.

E. Dosierung der Vakzine.

1. Die Dosierung geschieht durch Zählung der Keime in der Aufschwemmung, und zwar mittels der Thoma-Zeissschen Kammer.

2. Um die Bakterien deutlicher sichtbar zu machen und sie bei eventueller Zählung vor der Abtötung unbewegt zu haben, verwendet man als Verdünnungsflüssigkeit für die Pipette der Thoma-Zeissschen Kammer folgende Lösung: 1 *g* NaCl, 2 cm^3 Formalin, 5 cm^3 alkoholisches Gentianaviolett auf 100 cm^3 destilliertes Wasser.

3. Die Füllung der Thoma-Zeissschen Kammer hat unter den gleichen Kautelen zu geschehen wie bei der Zählung der Blutkörperchen: Füllung der Pipette mit der Bakterienaufschwemmung bis Marke 1, dann mit der oben angegebenen Lösungsflüssigkeit bis Marke 101; die Pipette wird gut durchgeschüttelt, ein Teil ihres Inhalts ausgeblasen und ein kleiner Tropfen in die Kammer gebracht, und zwar so, daß er sich beim Bedecken mit dem Deckgläschen nur in der Mitte der Kammer ausbreitet.

4. Die so beschickte Kammer wird eine Stunde lang stehen gelassen, dann erfolgt die Zählung; es wird das in der Kammer eingeätzte Netz eingestellt, dann mustert man etwa 20—30 Quadrate durch, wobei man den Tubus mit der Mikrometerschraube abwechselnd hebt und senkt (starke Trockenvergrößerung). Dabei ist zu beachten, daß man die Quadrate in ihrer ganzen Tiefe schichtenweise nacheinander untersuchen muß.

5. Die Berechnung der Keimzahl in der Bazillenaufschwemmung erfolgt wie bei der Blutkörperchenzählung nach der Formel

$$x = \frac{m \,.\, n \,.\, 4000 \,.\, 1000}{z}$$

wobei m die Summe der gezählten Bakterien, n der Verdünnungskoeffizient der Bazillenaufschwemmung (d. h. bei der Thoma-Zeiss-Pipette 100), 4000 die Dicke der Oberfläche der Kammer, 1000 die Umrechnungsziffer von 1 mm^3 auf 1 cm^3, z die Anzahl der gezählten Quadrate und x die sich ergebende Menge der Bakterien in 1 cm^3 Bazillenaufschwemmung bedeuten.

F. Verdünnungsmethode.

Die therapeutischen Dosen der Vakzine sind je nach den Bakterienarten verschieden, daher müssen die Vakzinen verschieden nachverdünnt werden. Die Stammvakzinen werden, um sie sicher steril zu erhalten, mit 0·5% Karbolkochsalzlösung nach der Formel:

$$y = \frac{\text{Zahl der verlangten Keime in 1 } cm^3 \times \text{Menge der verlangten 0·5\% Karbolkochsalzlösung}}{\text{Zahl der in 1 } cm^3 \text{ Stammvakzine enthaltenen Keime}}$$

hergestellt, wobei y die Menge Stammvakzine bedeutet, die bei Zusatz zur entsprechenden Menge Lösung die gewünschte Bakterienzahl pro cm^3 ergibt, zum Beispiel:

$$y = \frac{\text{50 Millionen} \times 5\ cm^3}{\text{4 Milliarden}} = 0{\cdot}062$$

das heißt 4.938 cm^3 Verdünnungsflüssigkeit + 0·062 Stammvakzine.

Nach Erledigung dieser Vorbereitungen werden geschlossene sterile kleine Phiolen, mittels steriler Kapillarpipetten mit je 1 *cm*³ der gewünschten Verdünnungen (die gewöhnliche Dosis für eine subkutane Injektion) gefüllt, wobei man das zugeschmolzene Ende zur Füllung abbricht und dann an der Flamme wieder zuschmilzt. Man stellt je zwei Phiolen der verlangten Verdünnung mit der entsprechenden Bezeichnung her; gewöhnlich braucht man deren 10—12 für eine Behandlung. Die Phiolen müssen kühl und dunkel aufbewahrt werden.

Der hauptsächliche Wirkungskreis der spezifischen Vakzinetherapie, die nach der Entstehung des opsonischen Index einsetzte, ist die Behandlung der Tuberkulose gewesen; hier hat auch die von Wright ausgedachte Technik ihre wahren Erfolge zu verzeichnen gehabt; sie stellte schließlich sogar die alte Tuberkulinkur nach Koch auf eine experimentelle Basis.

Rolle der Leukozyten.

Vom theoretischen Standpunkt aus sind die phagozytären Vorgänge, die die Grundlage der Metschnikoffschen Theorie und der Vakzinationstherapie von Wright bilden, nur sekundäre Erscheinungen. In Wirklichkeit sind die Leukozyten nur die Hyänen, die den Organismus von den Kadavern der im Kampfe zwischen den Bakterien und dem aktiv oder passiv immunisierten Organismus Gefallenen befreien.

Metschnikoffs Anschauung, daß die antibakteriellen Sera auf die Leukozyten und nicht auf die Bakterien wirken, ist vollständig abzulehnen. Es ist zwar mit aller Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß die Leukozyten das Zerstörungswerk der Säfte vollenden und so zur Verteidigung des Organismus beitragen, aber den ersten und wichtigsten Faktor des Abwehrmanövers bilden doch die Reaktionen zwischen den Säften (Blut, Serum) und den pathogenen Bakterien.

Es ist um so notwendiger, dies hervorzuheben, als damit eine seit vielen Jahren von Zellular- und Humoralpathologen umstrittene Immunitätsfrage endgültig gelöst erscheint: ob nämlich die Zellen oder die Säfte die Elemente seien, denen der Schutz des Organismus anvertraut ist. Gegenüber der Auffassung von Metschnikoff, dem Verkünder der phagozytären Theorie und seinen meist französischen Anhängern hatten schon früher Fodor und Nuttal, Buchner und eine Schar hauptsächlich deutscher Forscher bewiesen, daß sich in den Säften, im Serum, im Blut wirklich bakterizide Kräfte aufgespeichert

finden, die nicht zu vernachlässigen sind und die man in Betracht ziehen muß, wenn man die Abwehrvorrichtungen, die dem Organismus zu Gebote stehen, richtig einschätzen will.

Bakterizidie. Der Nachweis der Bakterizidie des normalen Serums kann ohne große Schwierigkeiten mit dem gewöhnlichen Verfahren der Aussaat der Bakterien mit anschließender Zählung der Kolonien durchgeführt werden, wenn man nur gewisse elementare Vorsichtsmaßregeln nicht außer acht läßt. Wenn wir Blut oder Serum durch Zusatz einer gewissen Menge von Bakterien verunreinigen und in verschiedenen Zwischenräumen Proben davon entnehmen, um die Anzahl der Keime zu berechnen, so werden wir ohneweiters leicht eine Verminderung der Zahl der Kolonien feststellen. Diese Abnahme entspricht aber nicht dem absoluten Wert der stattgehabten Keimzerstörung, weil neben den vernichteten Keimen andere, resistentere sich vermehren und die Bakterizidie teilweise larvieren können; wir sehen und zählen nicht die auf dem Schlachtfelde gebliebenen Leichen, sondern die lebendigen Keime und können die überlebenden nicht von denen trennen, die, durch Teilung der letzteren neugebildet, die Lücken wieder ausgefüllt haben. Trotzdem kann man unter besonders günstigen Versuchsbedingungen, bei geeigneter Auswahl der Zahl und Beschaffenheit der Keime und der Zwischenräume, in denen man die Zählung vornimmt, die vollständige oder fast vollständige Zerstörung der Keime wahrnehmen und ein ziemlich genaues Urteil über die vom normalen Serum entfaltete bakterizide Wirkung gewinnen. (Siehe Tabelle, Seite 103.)

Ein Blick auf die nachfolgende Tabelle, die dem klassischen Werke Buchners entnommen ist, wird Sie rasch von der nicht unbedeutenden bakteriziden Wirkung des Hunde- und Kaninchenblutes auf Typhus- und Milzbrandbazillen überzeugen, Ihnen aber auch die Verschiedenheit der Bakterizidie je nach den verwendeten Bakterien zeigen, da die Anzahl der Rotlaufbakterien im Serum fast gar keine Verminderung erfahren hat; ebenso verhalten sich auch die Pneumokokken und Streptokokken, die weder im normalen Serum noch im Immunserum in nennenswerter Zahl vernichtet werden.

Welche Vorsichtsmaßregeln man einhalten muß, um nicht einer irrigen Einschätzung der gesammelten Zahlen zu verfallen, wird deutlich in dem unteren Teil der Tafel gezeigt; daraus

BAKTERIZIDIE.

Nährboden	Aussaat	Anzahl der Kolonien		
		Gleich nach der Aussaat	nach 2 Stunden	nach 5½ Stunden
Hundeblut (mit Pepton)	Typhusbazillen	1233	129	0
		4340	136	1
		4510	168	2
Defibriniertes Kaninchenblut	Milzbrandbazillen (ohne Sporen)	284	53	8
		512	21	8
		375	12	0
Kaninchenserum	Milzbrandbazillen	3326	3	0
	Typhusbazillen	1162	29	0
	Rotlaufbazillen	304	471	791

Aussaat	Anzahl der Kolonien			
	beim Aussäen	nach 3 Stunden	nach 6½ Stunden	nach 48 Stunden
Reichlich	14.273	50	10	∞ (unzählbar)
	12.398	49	4	∞
	18.938	42	7	∞
Mäßig	330	11	1	0
	539	12	3	0
	324	6	6	0
Gering	78	6	2	0
	82	13	6	0
	62	9	2	0

Aus: Buchner, Bakterienfeindliche Wirkungen des Blutes.

entnimmt man, wie eine allzu reichliche Aussaat zugleich mit einer zu spät vorgenommenen Zählung die Quelle von Irrtümern sein kann, indem man so eine bakterizide Fähigkeit, die unter günstigen quantitativen und zeitlichen Verhältnissen ganz deutlich nachweisbar ist, übersehen kann. In ähnlicher Weise kann jede Verhinderung des innigen Kontaktes zwischen Serum und Keimen, die Gegenwart von Nährstoffen, die für die Bakterien günstig sind, oder irgendeine Veränderung in der Reaktion diese so empfindliche Funktion des Serums beeinflussen.

Die angeführten Fehlerquellen reichen wohl aus, um Ihnen verständlich zu machen, warum die Ergebnisse Buchners nicht allgemein anerkannt und die bakterizide Wirkung nicht ohneweiters zugegeben wurde. Der Nachweis der Bakterizidie wurde auch dadurch erschwert, daß die bakteriziden Stoffe sehr labil sind. Aber um diesen Substanzen die Bedeutung von Abwehrvorrichtungen, von Alexinen (ἀλέξειν = abwehren), wie sie Buchner nannte, zuschreiben zu dürfen, mußte man den Beweis liefern, daß sie wirklich auch im Organismus die in vitro beobachtete bakterizide Wirkung ausüben.

Alexine.

Die Versuche, die beweisen sollten, daß diese in vitro nachgewiesenen und studierten Alexine wirklich auch in vivo im tierischen Körper die Träger der Immunität sind, stießen jedoch auf fast unüberwindliche Schwierigkeiten. Behring konnte zwar eine Bestätigung dieser Annahme beibringen, indem er zeigte, daß das Blutserum von Mus decumanus, die gegen Milzbrand refraktär ist, die Milzbrandbazillen in vitro abzutöten vermag, d. h. mit anderen Worten, daß die Immunität der Ratte auf der bakteriziden Fähigkeit des Serums zu beruhen schien. Auf ähnliche Weise waren Charrin und Roger zu dem Schluß gekommen, daß das Blutserum keine allgemeine bakterizide Wirkung hat, wohl aber oft eine solche gegen jene Bakterien besitzt, gegen die das betreffende Tier immun ist. Später brachten genauere Versuche eine Berichtigung in dem Sinne, daß in Wirklichkeit kein so direkter Parallelismus zwischen der bakteriziden Fähigkeit des Serums und der Unempfindlichkeit besteht, wie Behring angenommen hatte.

Wie aus der angeführten Tabelle zu entnehmen ist, entfaltet das Kaninchenblut eine bemerkenswerte bakterizide Wirkung auf den Milzbrandbazillus; ich kann hinzufügen, daß sie die des Hundeblutes weitaus übertrifft. Aber das Kaninchen

ist absolut nicht refraktär gegen Milzbrand, im Gegenteil, es unterliegt ihm leicht; der Hund hingegen besitzt eine natürliche Immunität gegen die Milzbrandinfektion. Die einfachste Auslegung der Widerstandsfähigkeit gegen gewisse Infektionen — nämlich die, sie mit der bakteriziden Fähigkeit, den Alexinen des Serums, in Zusammenhang zu bringen — schien mit den experimentellen Resultaten nicht im Einklang zu stehen. In der Tat waren die ersten serotherapeutischen Versuche noch vor denen Behrings — die dahin gerichtet waren, die im Serum einiger refraktärer Tiere angetroffene bakterizide Wirkung zur Übertragung der Immunität auf andere Tiere auszunützen — von keinem günstigen Erfolge begleitet.

Nicht einmal die Humoristen, wenn mir der Wortwitz gestattet ist, konnten also entscheidende Beweise zur Aufklärung der so heiß umstrittenen Frage bringen, welche Faktoren die natürliche Immunität, die Widerstandsfähigkeit gegen Infektionen bestimmen. Tatsächlich waren die Meinungsunterschiede zwischen der deutschen Schule, aus der sich die Anhänger der Humoraltheorie rekrutierten, und der französischen, in deren Reihen die eifrigsten Zellularisten standen, nicht gar so unvereinbar. Auch Buchner leitete die Alexine in letzter Instanz von den Leukozyten ab, aber er nahm an, daß sie sich schon in vivo abspalten; Metschnikoff leugnete, daß sie im Blute vorgebildet seien und behauptete, daß sie erst im Serum während der Koagulation auftreten, und zwar geradezu infolge des Zugrundegehens der Leukozyten. Jedenfalls ist trotz der ungeheuren Menge an Arbeit, die für und wider die beiden angeführten Thesen aufgewendet wurde, das Problem, insoweit es den Mechanismus der natürlichen Immunität betrifft, noch ungeklärt.

Bei Übertragung der geschilderten Theorien auf die künstliche antibakterielle Immunität hingegen hatten die Deutschen mehr Glück, als Metschnikoff bei seiner Theorie der Stimuline gehabt hatte. Seine Hypothese, daß bei der Reaktion des Organismus auf Einführung bestimmter Bakterien sich Substanzen bilden, die statt direkt auf die Bakterien zu wirken, einen spezifischen Reiz auf andere zelluläre Elemente ausüben, steht tatsächlich im Widerspruch mit einem fundamentalen Grundsatz der Serologie, der einen direkten Antagonismus zwischen den Antikörpern und den zu ihrer Herstellung verwendeten Antigenen

verlangt. Die einfachste und rationellste Auslegung, die eine direkte Einwirkung der antibakteriellen Sera auf die entsprechenden Bakterien annahm, konnte denn auch endlich nach einer Reihe von Mißerfolgen eine experimentelle Stütze finden und dann bald über die Metschnikoffsche Anschauung den Sieg davontragen.

Pfeiffersches Phänomen.

Pfeiffer führte zusammen mit seinen Schülern Wassermann, Issaeff und Kolle im Verlauf ihrer Arbeiten über die Choleraimmunität einen ersten Schlag gegen die Metschnikoffsche Theorie; er konnte nämlich mittels eines geistvollen technischen Kunstgriffes die Bakteriolyse des Choleravibrio durch das Choleraserum im Organismus ohne Intervention von Zellelementen erzielen. Es war Pfeiffer gelungen, Meerschweinchen gegen den Kommabazillus zu schützen, indem er ihnen Choleravibrionen, gemischt mit Serum von gegen Cholera immunisierten Tieren intraperitoneal injizierte. Um den Mechanismus der Choleraimmunität zu ergründen, kam er darauf, den Verlauf der Cholerainfektion bei den Meerschweinchen, die nur mit Vibrionen und solchen, die mit Vibrionen und Choleraserum behandelt waren, vergleichend zu verfolgen. Er entnahm daher von Zeit zu Zeit etwas seröse Flüssigkeit aus der Peritonealhöhle und konnte so beobachten, daß bei den nur mit Vibrionen behandelten Tieren die Vibrionen ihre Beweglichkeit beibehielten und sich rasch vermehrten, so daß die Meerschweinchen innerhalb weniger Stunden zugrunde gingen. Bei den mit Choleraserum geschützten Meerschweinchen war ebenso wie bei den aktiv immunisierten das Bild ein ganz anderes: die ins Peritoneum eingespritzten Vibrionen verwandelten sich in beiden Fällen zuerst in kleine Körner und zerfielen dann ganz, ohne daß man in der entnommenen Flüssigkeit Leukozyten vorfand. (Siehe Serodiagnose der Cholera.)

Diese Beobachtung, die unter dem Namen Pfeiffersches Phänomen bekannt ist, beweist also, daß die Wirkung des Choleraserums auf die Kommabazillen in einer Bakteriolyse besteht, an der gar keine zellulären Elemente teilnehmen. Die Metschnikoffsche Theorie mußte deshalb fallen gelassen werden.

Für die Theorie bedeutet die Entdeckung Pfeiffers das Ende von Metschnikoffs Stimulinen, wenn sie auch keine genaue, vollständige Darstellung der inneren Vorgänge bei der

Bakteriolyse geben kann. Sie bildet jedoch für die Praxis den Ausgangspunkt einer Reihe von serodiagnostischen Reaktionen, über die wir in den nächsten Abschnitten weiter sprechen werden. Das Pfeiffersche Phänomen wurde in der Folge auch bei anderen Keimen festgestellt, z. B. beim Typhus, wo die bakteriolytische Wirkung des antibakteriellen Serums eine spezifische ist, d. h. innerhalb gewisser Grenzen nur gegen den antigenen Keim gerichtet. Mit anderen Worten: das Choleraserum erwies sich in bestimmten Dosen als bakteriolytisch nur für den Choleravibrio und nicht auch für die choleraähnlichen Keime, und ebenso ist das Typhusserum nur imstande, auf die Typhusbazillen bakteriolytisch zu wirken und nicht auf Typhus ähnliche oder auf Keime aus der Koligruppe. Das Pfeiffersche Phänomen läßt sich zur Differentialdiagnose der Cholera und des Typhus von morphologisch ähnlichen Keimen verwenden, wie auch zur Differenzierung und zum Studium der Bakterien bei Fleischvergiftungen.

Der peritoneale Versuch gestattete demnach, die Wirkung gewisser antibakterieller Sera auf spezifische bakterizide Substanzen zurückzuführen, die nach Pfeiffer im tierischen Körper durch die Endothelzellen der Bauchhöhle aktiviert wurden. Der mit Serum immunisierte Organismus sowie auch der aktiv immunisierte gingen siegreich aus der Infektion hervor, dank der bakteriziden Kraft, die im Serum im latenten Zustand enthalten ist und in der Peritonealhöhle in der angegebenen Weise zutage tritt. Auf welche Art sich der von Pfeiffer nachgewiesene Vorgang vollzieht und wie er aufzufassen ist, wurde jedoch erst durch die Untersuchungen von Metschnikoff und Bordet aufgeklärt. Metschnikoff bewies, daß die Umwandlung der inaktiven Antikörper, die in den antibakteriellen Seris enthalten sind, in aktive bakterizide Substanzen nicht an einen rein vitalen Prozeß gebunden ist; denn es gelang ihm, dem Choleraserum auch in vitro bakterizide Eigenschaften zu verleihen, und zwar durch Zusatz von peritonealem Exsudat. Bordet beobachtete bald darauf, daß das normale frische Serum ebenso wirkt, nämlich gleichfalls dem Choleraserum in vitro die von Pfeiffer festgestellten bakteriolytischen Eigenschaften verleiht; so konnte er das Pfeiffersche Phänomen reproduzieren, indem er entweder einem abgelagerten Choleraserum frisches, normales Serum zusetzte oder indem er ganz frisches Choleraserum verwendete.

Erklärung des Phänomens.

Diese Beobachtung von Bordet ist von einer ganz hervorragenden theoretischen Bedeutung. Die spezifische Bakterizidie, die vom antibakteriellen Serum beim Pfeifferschen Phänomen ausgeübt wird, ist das Resultat der kombinierten Wirkung zweier Komponenten: die eine ist spezifisch, d. h. man findet sie nur im antibakteriellen Serum, die andere ist nicht spezifisch, sondern in den normalen Seris und Körpersäften im allgemeinen vorhanden, jedoch äußerst labil. Beim Pfeifferschen Versuch ist es die Peritonealflüssigkeit, die in vivo diesen Aktivator liefert, der unentbehrlich ist, um den körnigen Zerfall der Bakterien im Choleraserum zu erzielen; bei der von Bordet ausgeführten Reproduktion des Phänomens in vitro wird die aktivierende Funktion von frischem Serum ausgeübt. Bordet nahm daher an, daß in beiden Fällen das antagonistische Serum den Bazillus vorbereitet, so daß er gegen die Wirkung der nicht spezifischen Komponente empfindlich wird. die er wegen ihrer Labilität mit dem Buchnerschen Alexin identifizierte.

Die Beobachtungen von Pfeiffer und Bordet gestatten endlich eine exakte Bewertung der experimentellen Befunde, die für und gegen die Metschnikoffsche Theorie angeführt wurden. Wir können den unermüdlichen Vorkämpfer der phagozytären Theorie unsere Bewunderung nicht versagen, schon wegen des mächtigen Aufschwunges, den die Immunitätslehre den von ihm ausgegangenen Anregungen verdankt. Die von Metschnikoff zugunsten seiner Auffassung angeführten Befunde bestehen nämlich noch heute zu Recht; der Parallelismus zwischen der Intensität der Phagozytose und dem Verlauf der Infektion ist wirklich vorhanden und wird durch so zahlreiche Versuchsreihen bestätigt, daß die Tatsache allgemein anerkannt wurde und zu keiner Meinungsverschiedenheit mehr Veranlassung geben kann. Bezüglich der Deutung der Beobachtungen hingegen entbrannte zwischen den französischen Forschern und der deutschen Schule ein heftiger Kampf, der noch nicht ganz ausgefochten ist, sondern in gemilderter Form anhält. Hatte Metschnikoff recht, wenn er aus der Koinzidenz zwischen dem Grad der Phagozytose und dem Ausgang der Infektion einen Kausalnexus konstruierte, in dem Sinne, daß die Phagozytose die Ursache der Zerstörung der Keime und die Genesung die Folge dieses Vorganges ist? Ist nicht vielmehr durch die Entdeckungen von

Pfeiffer und Bordet endgültig bewiesen, daß die Zerstörung der Keime sich unter dem Einfluß der Körpersäfte allein mit Ausschluß aller zellulärer Elemente vollziehen kann, zwingen sie uns nicht eher, den Kausalnexus umzukehren und damit die Theorie von Metschnikoff abzulehnen? Die Schlacht, die den Ausgang einer Infektion entscheidet, wird zwischen den Krankheitserregern und den Körpersäften ausgefochten; wenn sie mit der Niederlage der eingedrungenen Keime endigt, so kommen die Phagozyten herbei wie die Hyänen, um die Bazillenleichen zu vertilgen, im entgegengesetzten Falle fehlt die Phagozytose. In dieser Beleuchtung erscheint die Phagozytose höchstens als ein Hilfsmittel, das zur Zerstörung der Keime beiträgt, die noch nicht ganz von den Säften vernichtet sind, und kann, wie wir gelegentlich der Opsonine gesehen haben, wichtige Hinweise bezüglich des Ausganges der Schlacht liefern, die zwischen Bakterien und Körpersäften stattfindet, aber sie verliert die Bedeutung einer entscheidenden Waffe im Verteidigungskampfe des Organismus gegen die Bakterien.

Der Wirkungsmechanismus des Choleraserums und auch des Typhusserums, die einander durchaus gleichen, ist uns also in allen seinen Phasen verständlich und kann bei den Versuchen in vitro in exakter Weise verfolgt und reproduziert werden. Es stand demnach zu erwarten, daß auch die therapeutische Wirkung dieser Sera ebenso deutlich und überzeugend sein werde. Diese Erwartung wurde getäuscht, weil weder die Typhus- noch die Cholerainfektion eine günstige Beeinflussung durch die vielfach versuchte serotherapeutische Behandlung erfahren. Zur Rechtfertigung dieser Mißerfolge können auch nicht jene Faktoren herangezogen werden, die zur Erklärung der schwankenden Resultate der Serumtherapie gegen die Strepto- und Staphylokokkeninfektionen dienen. Der Choleravibrio und ebenso der Typhusbazillus weisen ziemlich konstante biologische Eigenschaften auf; die Virulenz der verschiedenen Stämme ist nicht so sprunghaft, obwohl ein echter Parallelismus nur zwischen der Wirkung auf den Menschen und der auf anthropoide Affen zu bestehen scheint. Um sich den therapeutischen Mißerfolg verständlich zu machen, griff man zu einer Hypothese, die in den letzten Jahren ziemlich viel Glück hatte.

Aggressine.

Im tierischen Organismus sollen diese Keime besondere Substanzen ausscheiden, die, an sich nicht toxisch, doch

imstande sind, eine Infektion zu einer tödlichen zu machen, die sonst keinen letalen Ausgang zur Folge hätte. Diese als Aggressine bezeichneten Substanzen sollen also die Ansiedlung der Keime begünstigen, indem sie deren Wirkung zu einer besonders aggressiven machen und die Schutzwirkung der Immunsera lahmlegen. Die therapeutische Aktivität einiger Sera dürfte nach Bail eben wegen dieser Aggressine der Keime sich nicht entfalten können, wenn sie nicht antagonistische Stoffe enthalten, die spezifisch auf die Aggressine wirken. Bail versuchte daher mittels der Körpersäfte infizierter Tiere, die reich an Aggressinen sind, spezifische antiaggressine Sera herzustellen. Bei der Schweineseuche kann diesen Aggressinen in der Tat ein gewisser prophylaktischer Wert nicht abgesprochen werden, da sie den damit behandelten Organismus zur Bildung von Substanzen anregen, welche der Entwicklung des Bacillus suisepticus hemmend entgegentreten. Bei Typhus und bei Cholera hingegen sind die therapeutischen Resultate mit antiaggressinen Seris nicht besser gewesen als die vorausgegangenen mit gewöhnlichen Antiseris, so daß die Frage der Serumtherapie bei diesen Krankheitsprozessen trotz der Beweiskraft der Tierversuche noch ungelöst ist.

Prophylaktische Impfungen

Trotzdem sind wir gegen Typhus und Cholera nicht machtlos, sondern vermögen auch den Menschen eine aktive Immunität gegen dieselben mittels der prophylaktischen Schutzimpfungen zu verleihen. Es gelingt nämlich durch 2- bis 3malige subkutane Einspritzung abgetöteter Bakterien auch beim Menschen eine erhöhte Widerstandskraft gegen diese Infektionen auszulösen, welche die Zahl der Erkrankungen und Todesfälle sehr günstig beeinflußt.

bei Typhus.

Das Verfahren hat sich nunmehr überall dort, wo eine Ansteckungsgefahr vorliegt, eingebürgert; es empfiehlt sich dasselbe zur Schutzimpfung der Truppen während des Krieges oder der Manöver in infizierten Gegenden, ferner für alle jene, die beruflich (Mediziner, Pfleger usw.) oder aus anderen Gründen direkt oder indirekt der Infektion ausgesetzt sind, aufs nachdrücklichste. Günstige Mitteilungen über die Wirksamkeit der Typhusschutzimpfung sind vor allem zu entnehmen den Statistiken Wrights, Pfeiffer-Kolles, sowie jener von Vincent über Hunderttausende von Schutzimpfungen. Es ergibt sich hieraus im allgemeinen eine Verminderung der Erkrankungen um die Hälfte, der Sterblichkeit um ein Viertel bis zur Hälfte.

Im Weltkriege war die Typhusschutzimpfung bei allen kämpfenden Heeren obligatorisch eingeführt, und wenn auch die Zeit noch nicht gekommen ist, um das durch dieses großartige Experiment der Prophylaxe angesammelte Material richtig einschätzen zu können, so kann man doch die günstige Beeinflussung des allgemeinen Gesundheitszustandes schon heute feststellen.

Vergleichswert.

Nach G a y kann man zumindest den Vergleichswert der für die Schutzimpfung des Menschen bestimmten Vakzinen beurteilen. Die Methode beruht auf der Möglichkeit, beim Kaninchen einen chronischen Zustand typhöser Infektion durch Läsionen der Gallenblase infolge Einnistung des Typhusbazillus dortselbst hervorzurufen; verwendet man Agarkulturen eines bestimmten Stammes, so kann man das Kaninchen zum chronischen Typhusbazillenträger machen, so daß es entweder eingeht oder wenigstens bei der Autopsie (nach drei oder mehr Wochen) regelmäßig charakteristische Veränderungen der Gallenblase mit positivem Kulturbefund zeigt. Der Wert einer Vakzine wird bestimmt, indem man das Kaninchen durch intravenöse oder subkutane Injektion der Vakzine immunisiert und 12 bis 20 Wochen später es mit der Testkultur impft, die imstande ist, bei den Kontrolltieren chronischen Typhus hervorzurufen. Beim entsprechend immunisierten Kaninchen sind die Blutkulturen negativ, es zeigt keine Schädigungen der Gallenblase und positiven Kulturbefund aus der Galle.

Die Typhusschutzimpfung war schon in der primitiven Form der bloßen Einimpfung der Typhuskeime zweifellos ein wichtiger Bestandteil der Verteidigungsmittel, die die Hygiene gegen die Typhusinfektion aufgebracht hat; ihr ist es zu danken, daß auch in den Fällen, wo trotzdem eine Erkrankung erfolgte, sie gewöhnlich weniger schwer verlief und die letalen Fälle sichtlich seltener wurden.

Die bakteriologischen Untersuchungen von G a l e o t t i und anderen haben gezeigt, daß beinahe 50% der Typhusfälle bei geimpften Personen auf Paratyphus zurückzuführen sind; daher wurde die mit dem E b e r t h schen Bazillus hergestellte Vakzine durch die sogenannte gemischte polyvalente Vakzine ersetzt, die auch die anderen vorgefundenen Keime enthält.

Die in der italienischen Armee auf Grund der gemachten Erfahrungen verwendete Vakzine enthält gerade 800 Millionen Typhusbazillen und 500 Millionen Paratyphus-B-Bazillen pro cm^3.

In der österreichisch-ungarischen Armee wurden Typhus- und Paratyphusschutzimpfungen im größten Maßstab und mit bestem Erfolg angewendet, und zwar polyvalente Vakzinen aus mehreren differenten Stämmen, bei 50°, später bei 48° unter Zusatz von 5% Karbol sterilisiert, ungefähr 500 Millionen Keime pro cm^3, in der Dosis von 1 cm^3 und Wiederholung nach 5—7 Tagen, mit obligater Revakzination nach längstens einem Jahr.

Auch gegen Dysenterie wurden zuerst polyvalente Mischungen von Pseudodysenteriestämmen, später auch Dysenterie Shiga-Kruse-Stämmen in ähnlicher Weise injiziert.

Die vollständige Schutzimpfung besteht aus 3 subkutanen Injektionen, die in Abständen von 7—8 Tagen mit steigenden Dosen ($1/2$ cm^3 = 650 Millionen Keime in der ersten Injektion, 1 cm^3 = 1300 Millionen in der zweiten und $1^1/_2$ cm^3 = 1950 Millionen in der dritten) ausgeführt werden. Die von Moreschi vorgeschlagene intravenöse Vakzination mit kleinen Dosen ($1/100$ Öse = 2·5 Millionen Keime) sollte, nach der größeren Menge von Agglutininen zu urteilen, die man im Serum der auf diese Art Geimpften findet, wirksamer sein; sie hat trotzdem nicht die verdiente Verbreitung gefunden, ausschließlich darum, weil sie für Massenimpfungen nicht expeditiv genug erscheint. Sie bietet aber den Vorteil, daß eine einzige Impfung statt der gewöhnlichen drei genügt und wäre daher bei der spezifischen Typhusprophylaxe an kleinen endemischen Herden sehr zu empfehlen.

Eine größere praktische Wichtigkeit besitzt zweifellos die Vakzine in Ölmischung (Lipovakzine, Glyzerovakzine), die in jüngster Zeit angewendet wird; mittels dieser wird die Schutzimpfung durch eine einzige ausgiebige Injektion mit geringerer Belästigung der zu impfenden Individuen, mit weniger Kosten nnd Zeitverlust ausgeführt.

Haben die Typhusschutzimpfungen noch niemand in Lebensgefahr gebracht, so erzeugen sie doch ziemlich oft eine intensive allgemeine Reaktion; daher muß man den Geimpften empfehlen, sich nach der Injektion 24 Stunden lang ruhig zu verhalten, Malariakranken gibt man präventiv Chinin und schließt von der Schutzimpfung Kachektische, nicht kompensierte Herzkranke und Tuberkulöse aus.

bei Cholera.

Obwohl bei Cholera — dank der Genauigkeit der bakteriologischen Diagnostik, die auch versteckte Herde, nämlich Bazillenträger, leicht auffindet — die Prophylaxe eher als beim Typhus durch Isolierung und alle übrigen hygienischen Maßnahmen etwas ausrichten kann, wurden doch die Schutzimpfungen bei allen Armeen in sehr großem Maßstab angewendet, sowie diese von der Ansteckung bedroht schienen.

So wurde im österreichisch-ungarischen Heer eine polyvalente Vakzine in gleicher Konzentration wie bei Typhus, Dosis $1/2$ cm^3, nach 5—7 Tagen 1 cm^3 verwendet, eventuell Typhus — Paratyphus — Cholera gleichzeitig, mit obligater Revakzination alle 6 Monate.

Gegen Cholera macht man nur zwei subkutane Injektionen im Abstand von 5 Tagen, und zwar die erste mit einer Vakzine aus zwei Milliarden abgetöteter Vibrionen und die zweite mit 5 Milliarden, oder entsprechenden Mengen von Nukleoproteiden nach Lustig. Auf die Schutzimpfung, die eine weniger intensive Reaktion hervorruft als die Typhusschutzimpfung, folgt eine kurze Periode erhöhter Empfänglichkeit

(negative Phase); man muß daher empfehlen, womöglich die Impfung auszuführen bevor die Ansteckungsgefahr drohend wird. Der erzielte Impfschutz ist kein absoluter, doch verläuft die Erkrankung bei den Geimpften milder, die Mortalität ist geringer, wenn sie trotz der Impfung erkranken, was auch viel seltener geschieht, indem die Morbidität bis 50% herabgesetzt ist. Über die Dauer der erhöhten Resistenz gehen die Ansichten auseinander, auf länger als 6 Monate ist sie wohl nicht einzuschätzen.

Im Kampfe gegen die Infektionskrankheiten greift man also zur aktiven Immunisierung in kurativer oder prophylaktischer Absicht, wo diese Schutzimpfung bessere Resultate als die Serumtherapie oder Serumprophylaxe gibt: so sind z. B. als Schutz gegen Pest in den gefährdeten Gegenden seit langem Pestschutzimpfungen mit der Vakzine von Haffkine eingeführt, die, wie die Typhus- und die Choleravakzine, aus abgetöteten Pestbazillen bestehen.

In derselben Art versucht man hier und dort in größerem Maßstab die Präventivimpfungen gegen Genickstarre, wobei man für die Vakzine vom Meningokokkus den Stamm oder die Stämme verwendet, die in der betreffenden Gegend die Epidemie verursachen. Gegen Keuchhusten wurde ebenfalls ein Serum angegeben.

Gonokokkenvakzine.

Auch bei gewissen Gonokokkenerkrankungen, gegen die wir ein wirksames Serum besitzen, kann die Vakzination der Serumtherapie vorzuziehen sein, so bei den chronischen Erscheinungen, um dem Patienten die der Serumbehandlung anhaftenden Unannehmlichkeiten zu ersparen, oder um ihm eine allmählich ansteigende, länger dauernde Schutzwirkung zu verschaffen.

Serovakzination.

In anderen Fällen wird das Serum der Vakzine zugesellt, um die Reaktion auf letztere abzuschwächen oder um die Vorteile der aktiven und passiven Immunität zu verbinden. Bei der bazillären Ruhr, z. B. werden heftige Reaktionen, die dem Endotoxin des Shigaschen Bazillus zuzuschreiben und ein Nachteil der Vakzination sind, ausgeschaltet, wenn man eine Mischung von Serum und Vakzine verwendet, in der das toxische Prinzip des Bakteriums vom Antitoxin unschädlich gemacht wird. Doch haben in der Humanmedizin diese Methode und die analogen von Behring, der gegen Diphtherie mit einer Mischung von Toxin und Antitoxin immunisiert und von Besredka, der sensibilisierte, d. h. mit spezifischen Antikörpern

gesättigte Vakzinen verwendet, bisher nicht viel Anklang gefunden.

In der Veterinärmedizin hingegen haben diese Verbindungen mehr Glück gehabt und sich ohne Widerstand eingebürgert, so zur Bekämpfung des Milzbrandes nach Sobernheim, des Rotlaufes nach Lorenz, des Rauschbrandes nach Leclainche in Gestalt der Serumvakzination, welche in der Schutzinjektion einer je nach Größe des Tieres variablen Serum-Schutzdosis besteht, auf die die Einführung eines ziemlich starken Impfstoffes folgt, so daß man zuerst eine passive, dann eine aktive Immunität erzielt. In gewissen Fällen gestaltet sich die Serumtherapie, so z. B. bei der Bekämpfung von filtrierbarem Virus wie bei der Schweinepest, von selbst zur Serumvakzination, indem während der Zeit, in welcher der Schutz des Serums anhält, eine leichte Erkrankung durchgemacht wird.

Fünftes Kapitel.

Agglutinine.

Serodiagnostische Fragen. — Bakteriolyse. — Bakterizide Reaktion. — Agglutination. — Serodiagnose bei Typhus. — Agglutinine bei anderen infektiösen Fieberkrankheiten. — Maltafieber. — Genickstarre. — Seuchenhaftes Verwerfen. — Rotz. — Ermittlung von Bazillenträgern. — Reaktion von Weil-Felix. — Agglutinierende Sera. — Agglutination im Status nascendi.

In den vorigen Kapiteln habe ich mich bemüht, im Detail auseinanderzusetzen, welche Triumphe und welche Mißerfolge die Serumtherapie bei ihren Versuchen gezeitigt hat, die Infektionskrankheiten mittels antitoxischer und antibakterieller, gegen die kausalen Erreger gerichteter Mittel zu bekämpfen. Die Serologie selbst hat, obwohl noch eine junge, kaum dreißig Jahre alte Wissenschaft, dank den modernen prophylaktischen und kurativen Behelfen, die sie uns in die Hand gegeben hat, das Interesse der Mediziner und auch der Laien auf sich gezogen. Neben der Serumtherapie ist in den allerletzten Jahren ein neuer Zweig der Serologie entstanden, die Serodiagnostik, die trotz des jüngeren Datums ihrer Selbständigkeit der Serumtherapie in gar nichts nachsteht, weder in praktischer noch in theoretischer Bedeutung.

Sero-diagnostik.

Mit ihr werden wir uns in den Abschnitten, die unseren Zyklus vervollständigen sollen, beschäftigen. Die Serodiagnostik benützt, wie schon ihr Name andeutet, die biochemischen Immunitätsreaktionen, die Ihnen schon bekannt sind, zu diagnostischen Zwecken, um im allgemeinen solche Substanzen aufzufinden, die mit den gewöhnlichen physikalisch-chemischen Untersuchungsmethoden gar nicht oder nur schwer nachgewiesen werden können; sie bedient sich hauptsächlich der Vorgänge, die bei den Reaktionen zwischen Antigen und Antikörper auftreten, um

diese Körper zu erkennen, die auf andere Art unserer Analyse entgehen würden. Wie die Serumtherapie aus der neutralisierenden Wirkung, die die Antikörper im Organismus auf die den physiologischen Stoffwechsel des Zellplasmas bedrohenden Gifte ausüben, Nutzen zu ziehen gewußt hat, ebensogut versteht es die Serodiagnostik, aus den Erscheinungen, die in vitro bei der Wechselwirkung zwischen Antigenen und Antikörpern nachweisbar sind, Schlüsse auf die Gegenwart dieser Substanzen in den zu untersuchenden Flüssigkeiten abzuleiten. Die Fragen, welche bei den serodiagnostischen Untersuchungen zu beantworten sind, sind immer dieselben, und zwar von überraschender Einfachheit: ist ein bekanntes Antigen gegeben, so ist in dem Untersuchungsmaterial, das die Unbekannte vorstellt, der entsprechende Antikörper zu suchen; oder umgekehrt, ist ein bekannter Antikörper gegeben, so ist herauszufinden, ob in dem Material, das einer serodiagnostischen Untersuchung unterzogen werden soll, das entsprechende Antigen enthalten ist. Als Hilfsmittel zur Untersuchung verwendet man die Erscheinungen, die die Reaktionen zwischen Antikörpern und Antigenen begleiten, weil sie spezifisch sind, d. h. unter bestimmten Bedingungen nur dann auftreten, wenn die Unbekannte im analysierten Material die gesuchte antagonistische oder antigene Substanz ist.

Bakteriolyse.

So dient, wie wir sehen werden, das Pfeiffersche Phänomen, das chronologisch die erste serodiagnostische Reaktion darstellt, dazu, um nachzuweisen, ob in verdächtigem Material Choleravibrionen enthalten sind, weil die Bakteriolyse nur dann eintritt, wenn die aus dem Untersuchungsmaterial gezüchteten Keime wirklich die Antigene sind, mit denen das Choleraserum zu reagieren vermag. In diesem Fall ist es ein bekannter Antikörper (das spezifische Serum), das mittels eines wohl deutlichen, aber nur in vivo verwirklichten Phänomens das aus dem Untersuchungsmaterial gezüchtete Antigen nachweisen hilft. Die spezifische Bakteriolyse kann jedoch ebensogut verwendet werden, ein Serum zu identifizieren, das Antikörper gegen Cholera enthält, wenn man nur über das genügend charakterisierte Antigen, nämlich Cholerabazillen verfügt.

Die Ausführung des Pfeifferschen Phänomens verlangt jedoch verhältnismäßig komplizierte Vorbereitungen. Man muß, außer über das spezifische Serum auch über bakteriologische Behelfe, Nährboden, Thermostaten, Mikroskop usw. verfügen,

abgesehen von den Versuchstieren. Deswegen ist auch die *Pfeiffersche* Methode auf die bakteriologischen und mikrobiologischen wissenschaftlichen Laboratorien beschränkt geblieben; sie dient uns dazu, die Resultate zu vervollständigen, die die Bakteriologie allein mittels mikroskopischer Untersuchungen und geeigneter Züchtungsverfahren zuwege bringen kann, auch ohne Unterstützung von seiten der Serodiagnostik.

Agglutination.

Die spezifische Bakteriolyse kann jedoch, wie wir wissen, auch in vitro, ohne Beteiligung des lebenden Tieres durchgeführt werden, wenn man nur *frisches* Serum verwendet; man dachte daher daran, zu diagnostischen Zwecken den *Pfeifferschen* Versuch durch die Prüfung der Bakterizidie zu ersetzen und tatsächlich wurde diese Methode auch zum Nachweis spezifischer bakterizider Antikörper im frischen Serum, das z. B. von typhusverdächtigen Kranken stammte, angewendet. Die Technik dieser Untersuchungsmethode ist einfacher als die der vorhergegangenen, weil man zum Unterschied von dem *Pfeifferschen* Phänomen das Versuchstier ersparen kann, aber trotzdem verlangt sie noch die Anwendung von Kulturen und anderen bakteriologischen Hilfsmitteln.

Als Indikator der spezifischen Reaktion dient die Zählung der Keime, die bei Einhaltung der uns bereits bekannten Vorsichtsmaßregeln gestattet, den Grad der Bakterizidie genau festzustellen und zu beurteilen, ob wirklich in dem untersuchten Serum die nachzuweisende bakterizide Substanz enthalten ist. Die Methode ist aber noch zu kompliziert, um vom praktischen Arzt ausgeführt werden zu können, der nicht immer Untersuchungen im Laboratorium vornehmen kann, sondern rasche, ohne zu großes Instrumentarium durchführbare und mit bloßem Auge sichtbare Reaktionen braucht.

Bakterizide Reaktion.

Glücklicherweise finden bei den Reaktionen zwischen Antikörpern und Antigenen außer der Auflösung, der Lyse (Bakteriolyse) auch andere Prozesse statt, die sich unseren Blicken durch Gerinnungsvorgänge oder die Bildung von spezifischen Niederschlägen darbieten. *Gruber* und *Durham* haben zuerst, wie ich schon erwähnt habe, beobachtet, daß gewisse Bakterien durch die Wirkung des entsprechenden antagonistischen Serums zusammengeballt oder agglutiniert werden; die homogene Suspension, die die Bazillen in der Bouillon bilden, in der sie gewachsen sind, wird von dem antagonistischen Serum derart verändert, daß

die Keime sich zuerst zu mikroskopisch wahrnehmbaren Häufchen gruppieren, dann mit bloßem Auge sichtbare Flöckchen bilden und schließlich in toto zu Boden sinken, so daß die Flüssigkeit vollkommen klar wird.

In den folgenden Mikrophotographien ist das Bild veranschaulicht, welches sich bei der Beobachtung der Widalschen Probe unter dem Mikroskope darstellt. Fig. 9 zeigt die Typhusbazillen, wie sie sich in einer frischen Bouillonkultur präsentieren; Fig. 10 die nach Zusatz von Serum eines Typhösen eingetretene Häufchenbildung. Im hängenden Tropfen wird in der frischen

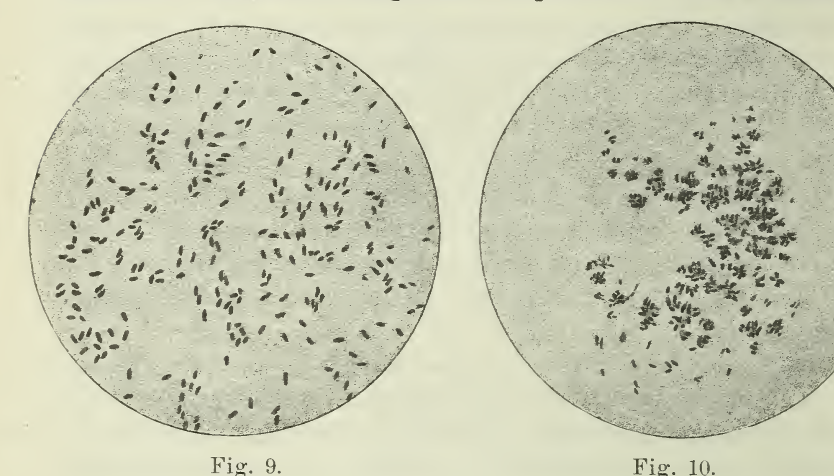


Fig. 9. Frische Typhusbouillonkultur.

Fig. 10. Agglutinierte Typhusbouillonkultur.

Kultur eine lebhafte Überwanderungsbewegung der Bakterien beobachtet, welche bei Zusatz des Serums wie durch Zauberei aufhört, da dieses die Keime noch vor der Agglutination lähmt.

Diese Reaktion, die den Namen „Agglutination" führt, besitzt also die gewünschten Eigenschaften, daß sie ohne Mikroskop und Kulturverfahren angestellt werden kann, nicht viel Zeit in Anspruch nimmt und mithin für jedermann durchführbar ist. Die Agglutinationsprobe bietet dem Bakteriologen ein Hilfsmittel, das einfacher ist als die Bakteriolyse, um einen Erreger zu identifizieren, dessen morphologische Charakteristika allein die Klassifizierung nicht zulassen; mittels agglutinierender Sera von hohem Titer läßt sich die Erkennung von Typhusbazillen oder Choleravibrionen mit größerer Leichtigkeit bewerkstelligen als nach der Pfeifferschen Methode. Die Technik der Sero-

agglutination ist, selbst wenn sie unter dem Mikroskop beobachtet wird, immer noch viel einfacher als die des Pfeifferschen Phänomens; die Häufchenbildung der Keime, welche der agglutinierenden Wirkung des spezifischen Serums ausgesetzt werden, tritt außerdem so schnell ein, daß eine überaus rasche Diagnose ermöglicht wird. Der Bakteriologe greift daher beim Typhus gewöhnlich zur Agglutinationsprobe, um einen verdächtigen, reingezüchteten Stamm zu identifizieren; bei Cholera führt er daneben auch den Pfeifferschen Versuch aus, weil diese Probe alle Zweifel beseitigt oder er bedient sich der Agglutination in statu nascendi, nach Bandi, von der wir später sprechen werden.

Widalsche Reaktion.

Die Agglutination bildet in der Klinik das einfachste serodiagnostische Verfahren, das die schönsten Erfolge bei der Unterscheidung jener infektiösen Krankheitsformen aufzuweisen hat, die durch die Gruppe der Typhus- und Paratyphusbazillen verursacht werden. Diese Reaktion ist allgemein als Widalsche Probe bekannt, weil Widal derjenige war, der entdeckte, daß sie außer zur bakteriologischen auch zur klinischen Diagnose benützt werden kann, da spezifische Agglutinine im Serum des Kranken schon eine Woche nach Ausbruch des Typhus auftreten.

Typhusdiagnostikum.

Ursprünglich benötigte man zum Widalschen Versuch mindestens eine Kultur von Typhusbazillen, einen Thermostaten und ein Mikroskop. Heute ist jeder praktische Arzt imstande, ihn in seinem Zimmer ohne weitere Behelfe auszuführen; die Typhusbazillenkultur ist durch die Bazillenaufschwemmung, das Typhusdiagnostikum, ersetzt worden, statt der mikroskopischen Untersuchung genügt die makroskopische, und in einer kleinen Schachtel ist alles Nötige enthalten, um die Reaktion jederzeit ausführen zu können. — (Siehe Nachtrag S. 250.)

Technik.

Es genügt, wenige Blutstropfen in einem Gläschen aufzufangen, das dem Typhusdiagnostikum beigegeben wird, um die zur Ausführung des Versuches notwendigen drei Tropfen Serum zu gewinnen. Sobald sich das Serum in der kleinen Vertiefung abgesetzt hat, die seine Entnahme erleichtert, stellt man die Probe folgendermaßen an: Man verteilt mittels eines Tropfenzählers in die Standgläschen (siehe Fig. 11) 50, 50 und 100 Tropfen der Bazillenaufschwemmung; man fügt denselben je einen Tropfen des Serums, das mit einem gewöhnlichen Tropfenzähler entnommen wurde, hinzu, während das eine der beiden 50 Tropfen enthaltenden Röhrchen ohne jeden Zusatz zur Kontrolle bleibt. Das Resultat wird nach 12- bis 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur abgelesen.

Ablesen des Resultates.

Die Reaktion wird als positiv angesehen, wenn die Bazillenaufschwemmung, die in dem Kontrollröhrchen gleichmäßig trüb geblieben sein muß, sich in den Röhrchen mit Serum vollständig geklärt und einen Niederschlag gebildet hat, der am Boden der Röhrchen abgesetzt ist (Fig. 11). In diesem Falle sagt man, daß die Agglutination bei 1:50, 1:100 etc. vollständig war und die Diagnose Typhus kann im allgemeinen als feststehend angenommen werden; wenn der Grad der Agglutination geringer ist, so daß die Klärung und folgende Niederschlagsbildung nur bei der Verdünnung 1:50 eintritt, während sie bei 1:100 fehlt oder unvollständig ist, so kann die Reaktion doch als positiv angesehen werden. Das Resultat gilt als negativ, wenn in gar keinem Röhrchen Niederschlagsbildung eintritt und alle das gleichmäßig trübe Aussehen des Kontrollgläschens beibehalten (Fig. 11). Die Widalsche Reaktion kann. wenn sie mit dem Typhusdiagnostikum angestellt wird, ambulatorisch und auch im Hause des Patienten ausgeführt werden; sie ist den Mitteln und der technischen Geschicklichkeit des Spezialisten ebenso wie der des praktischen oder Amtsarztes ohneweiters zugänglich.

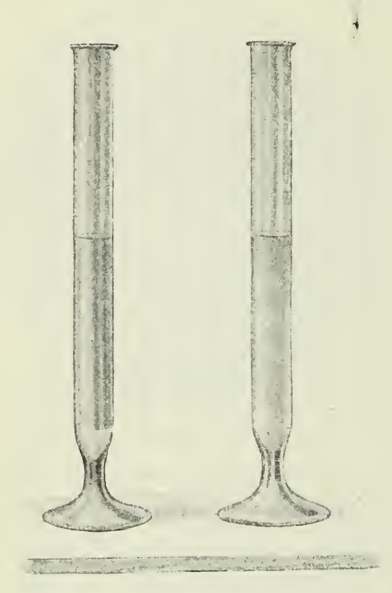


Fig. 11.
Agglutination
positiv negativ

Gewissen Voraussetzungen muß sie jedoch genügen, wie übrigens alle Agglutinationsproben, denn gerade die außerordentliche Einfachheit des Versuches erheischt eine genaue Kontrolle der Reagentien.

Voraussetzungen.

Die Bazillenaufschwemmung, die dem Arzt als Typhusdiagnostikum verkauft wird, wird in dem Institut, das sie liefert, mittels agglutinierenden Serums von bekanntem Titer geprüft, um einerseits die vollständige Agglutinierbarkeit der Aufschwemmung festzustellen und andererseits auszuschließen, daß sie schon an und für sich eine Spontanagglutination aufweise.

Diese Vorsichtsmaßregeln und Kontrollversuche sind unumgänglich nötig, weil bekanntermaßen manche Typhusstämme, speziell solche, die erst frisch isoliert sind, wenig agglutinierbar sind, und umgekehrt gewisse allzu bakterienreiche Aufschwemmungen die Bildung spontaner Bodensätze (Niederschläge) zeigen können; in diesem Falle könnte man eine teilweise Agglutination annehmen, wo die Reaktion doch in Wirklichkeit negativ ist. Aus diesem Grunde ist es unumgänglich notwendig, daß auch der Arzt bei Vornahme der Reaktion sich von der Beschaffenheit der Aufschwemmung überzeuge; diesem Zwecke dient das Kontrollröhrchen mit der Aufschwemmung allein. Es ist eigentlich selbstverständlich und bedarf kaum einer besonderen Erwähnung, daß die Tropfen der Tropfenzähler gleich groß sein müssen, damit das Verhältnis zwischen Bazillenaufschwemmung und Serum der Vorschrift entspricht; auch um dieses Detail kümmert sich das Institut, so daß der Arzt sich auf die Genauigkeit des Resultates der Probe getrost verlassen kann.

Positiver, zweifelhafter negativer Ausfall der Reaktion.

Diese Resultate sind in der Regel eindeutig, wenigstens vom technischen Standpunkte aus, und lassen — wie gesagt — auf ein positives Ergebnis schließen, wenn die Agglutination in allen drei Röhrchen außer dem Kontrollröhrchen oder wenigstens in denen mit den Verdünnungen 1:25 und 1:50 vollständig ist; auf ein zweifelhaftes, wenn nur bei 1:25 Agglutination eintritt und auf ein negatives, wenn die Agglutination in allen vier Röhrchen fehlt. Trotzdem gibt es Fälle, in denen die Agglutination bei Verdünnungen des Serums auf 1:50 oder 1:100 vollständig ist, aber bei 1:25 ebenso wie in dem Kontrollröhrchen fehlt oder unvollständig bleibt.

Paradoxe Reaktion.

Um sofort die Zweifel zu zerstreuen, die dieser merkwürdige Befund erwecken könnte, will ich gleich bemerken, daß in diesem Fall die Reaktion als sicher positiv zu betrachten ist. Diese paradoxe Erscheinung hängt von der Eigentümlichkeit gewisser agglutinierender Sera ab, in starken Konzentrationen weniger aktiv zu sein als in schwächeren.

Bau der Agglutinine.

Der Bau der Agglutinine, wie er nach der Ehrlichschen Theorie angenommen wird, erklärt uns in einfacher Weise diese merkwürdige Erscheinung. Die Agglutinine haben nach Ehrlich (siehe Seite 42) einen den Toxinen ganz ähnlichen Bau; wie wir bei den Toxinen die haptophore und die toxophore Gruppe unterschieden haben, so nimmt man auch bei den

Zymophore Gruppe. Agglutinoide.

Agglutininen neben der haptophoren Gruppe die Existenz einer zymophoren Gruppe an, die die Trägerin der agglutinierenden Wirkung ist. Diese Unterscheidung erscheint durch den Umstand gerechtfertigt, daß die neutralisierende und bindende Wirkung der haptophoren Gruppe bestehen bleiben kann, wo die agglutinierende Wirkung, die an die zymophore Gruppe gebunden ist, durch Erwärmung zerstört worden ist; d. h. die Wärme zerstört die zymophore Gruppe, ohne die haptophore anzugreifen, verwandelt also das Agglutinin in ein Agglutinoid, sowie bei längerem Abliegen das Toxin zu einem Toxoid wird.

Die Agglutinoide haben also die Eigenschaft bewahrt, die entsprechenden haptophoren Gruppen der Bakterien zu sättigen, ohne jedoch ihre Agglutination hervorrufen zu können, weil ihnen die zymophore Gruppe fehlt; umgekehrt sind die mit Agglutinoiden gesättigten Bakterien nicht mehr von den intakten Agglutininen agglutinierbar, weil deren zymophore Gruppe nicht in Aktion treten kann, da der haptophoren Gruppe infolge der vorhergegangenen Sättigung der haptophoren Gruppen der Bakterien durch die Agglutinoide der Angriffspunkt fehlt.

In den Immunseris sind nun auch neben den Agglutininen Agglutinoide in verschiedener, aber stets beschränkter Menge enthalten. Wenn die Agglutinationsprobe mit schwach (z. B. auf 1:10—30) verdünntem Serum vorgenommen wird, kann die Menge der vorhandenen Agglutinoide genügen, um sämtliche Bakterien oder einen großen Teil zu sättigen und sie so der Wirkung der Agglutinine zu entziehen. Bei stärkeren Verdünnungen des Serums verringert sich natürlich die Menge der Agglutinoide dementsprechend, so daß die Zahl der von Agglutinoiden besetzten Bakterien nur eine kleine ist und die intakten Agglutinine ihre ganze Wirksamkeit entfalten können.

Diagnostische Bedeutung der Probe.

Aber kehren wir nach dieser kurzen Abschweifung zu den Resultaten der Serodiagnose zurück. Wir müssen uns nun fragen, welche Bedeutung für die Diagnose der positive oder negative Ausfall der Reaktion hat. Berechtigt uns eine negative Reaktion, einen Typhus auszuschließen, gestattet uns dagegen eine positive die Diagnose „Typhus“ mit apodiktischer Gewißheit zu stellen?

In Wahrheit kann man den Ergebnissen der Serodiagnose in keinem Fall eine absolute Bedeutung zuschreiben. Die

Widalsche Probe darf nicht für sich allein beurteilt werden, sondern nur im Zusammenhang mit dem klinischen Verlauf des Infektionsprozesses. Eine negative Reaktion wird besonders in den ersten Tagen, zuweilen aber auch in einem vorgeschritteneren Stadium der Krankheit die Diagnose „Typhus" nicht widerlegen, falls die Anamnese und die klinischen Symptome entschieden für eine typhöse Krankheitsform sprechen; in solchen Fällen wird man den Versuch nach einer gewissen Zeit wiederholen, wenn sich die Bildung der Agglutinine wahrscheinlich eingestellt haben dürfte.

Auch ein positives Ergebnis gestattet uns nicht, einen absolut sicheren Schluß zu ziehen, weil es Agglutinationen in den angegebenen Verhältnissen auch bei Seris von Individuen mit anderen Krankheiten gibt; aber in der Mehrzahl der Fälle deutet es doch darauf hin, daß in dem fraglichen Serum zweifellos ein Agglutinin gegen Typhus enthalten ist, daß also der Organismus, der das Serum geliefert hat, entweder vor kürzerer oder längerer Zeit einen Typhus durchgemacht hat oder eben an einer Infektion mit dem Eberthschen Bazillus leidet oder aber vor nicht zu langer Zeit einer Typhusschutzimpfung unterzogen worden ist. Im allgemeinen dient also eine positive Reaktion in verdächtigen Fällen dazu, die Diagnose zu sichern, sobald bei positivem Befund auf Grund der Anamnese eine vorausgegangene Infektion oder Schutzimpfung auszuschließen ist.

Ausnahmen.

Doch kann infolge der sogenannten Gruppenreaktionen, wobei die Agglutination sich auch auf die Keime ausdehnt, die dem kausalen biologisch nahestehen, die Widalsche Reaktion auch bei anderen Krankheitsformen in den für die Typhusinfektion charakteristischen Proportionen positiv ausfallen. So kann bei gewissen Paratyphusinfektionen die Widalsche Reaktion nicht bloß bei 1:50 bis 100, sondern bis zu 1:500 und darüber positiv ausfallen, so daß man die Diagnose Typhus für sicher halten könnte.

Demgegenüber sprechen die kulturellen und biologischen Eigenschaften der aus dem Blute des Patienten isolierten Keime entschieden für Paratyphusbazillen, und die Diagnose wird auch von der Tatsache bestätigt, daß das Serum des Patienten die jeweilig gezüchteten Paratyphusstämme bis zu höheren Verdünnungen (1:1000 und darüber) agglutiniert. Bei solchen Infektionen durch Erreger, die hauptsächlich der Paratyphusgruppe

A und B angehören, kann also das Serum neben der agglutinierenden Wirkung auf den kausalen Erreger auch agglutinierende Eigenschaften für den Typhusbazillus enthalten, die zwar schwächer sind, aber doch für das Zustandekommen der Widalschen Reaktion vollauf genügen.

In diesem Falle gestattet uns jedoch ein eingehenderes Studium der agglutinierenden Reaktion gewöhnlich die Frage zu lösen, auch ohne zum Hämokulturverfahren greifen zu müssen. Wenn man das Typhusdiagnostikum durch Aufschwemmungen anderer Bakterien ersetzt, die sich auch im Handel unter der Bezeichnung Diagnostikum mit der vorangestellten Benennung des verwendeten Bazillus befinden, wie das Paratyphusdiagnostikum A und B, so wird der Zusatz des verdächtigen Serums bei größeren Verdünnungen die Agglutination in derjenigen Aufschwemmung hervorrufen, die den wirklichen Krankheitserreger enthält. Die Aufschwemmung dieses Stammes ist überdies befähigt — wie der Versuch von Castellani zeigt — dem Serum alle agglutinierende Substanz zu entziehen, so daß man diejenige Aufschwemmung als die den Krankheitserreger enthaltende anzusehen hat, die dem Serum alle agglutinierende Fähigkeit für andere Aufschwemmungen zu entziehen vermag. Bei Paratyphusinfektionen kann demnach die Diagnose ohne Kulturverfahren gestellt werden, weil das Paratyphusdiagnostikum imstande ist, dem Serum die agglutinierende Wirkung auf das Typhusdiagnostikum zu entziehen, während letzteres die Wirkung des Serums auf das Paratyphusdiagnostikum nicht aufzuheben vermag.

Gesetzt den Fall, es agglutiniere das Serum eines Kranken in der Verdünnung von 1 : 100 sowohl Typhus- als Paratyphus-B-Bazillen, so wäre mittels des Castellanischen Versuches festzustellen, ob es sich um eine Paratyphusinfektion oder eine Mischinfektion handle. Die Entscheidung der Frage wäre folgendermaßen herbeizuführen:

Man wiederholt in einer ersten und zweiten Versuchsreihe die Agglutination in der üblichen Weise mit dem Patientenserum gegenüber der Typhusaufschwemmung, und in einer dritten und vierten Versuchsreihe gegenüber der Paratyphusaufschwemmung und gießt nach erfolgter Agglutination die Serumverdünnungen ab. Die Abgußflüssigkeiten (Serumverdünnungen) werden dann zu gleichen Teilen vermischt:

in der ersten Versuchsreihe mit Typhusaufschwemmung,
in der zweiten Versuchsreihe mit Paratyphus-B-Aufschwemmung,
in der dritten Versuchsreihe mit Typhusaufschwemmung,
in der vierten Versuchsreihe mit Paratyphusaufschwemmung.

Die Ablesung der Resultate erfolgt am nächsten Tage.

Handelt es sich um eine Typhusinfektion, so ergibt sich in der ersten Versuchsreihe Abnahme des Agglutinationsvermögens für Typhus, in der zweiten Reihe für Paratyphus B, in der vierten für Paratyphus B, in der dritten Versuchsreihe darf der Agglutinationstiter keine merkliche Verminderung aufweisen.

Beim Vorliegen einer Paratyphusinfektion ergibt sich Abnahme des Agglutinationstiters in der ersten und dritten Reihe für Typhus, in der vierten für Paratyphus; nur der Titer der zweiten Reihe bleibt nahezu unverändert.

Bei Bestehen einer Mischinfektion zeigt sich Abnahme des Agglutinationstiters in der ersten und vierten Reihe, während die Werte in der zweiten und dritten unverändert oder doch nahezu unverändert bleiben.

Diese Absättigungsprobe von Castellani kann also sehr gut dazu verwendet werden, die Diagnose in solchen Fällen zu sichern, in denen die Infektion das Auftreten sogenannter Koagglutinine durch verwandte Erreger bewirkt; denn sie dient dazu, die vorherrschenden Agglutinine, die gegen den eigentlichen Krankheitserreger gerichtet sind, von den anderen Agglutininen oder Koagglutininen für die verwandten Keime zu unterscheiden. Der elegante Versuch von Castellani kann also auch zur Diagnose von Mischinfektionen angewendet werden, wie z. B. von Typhus- und Paratyphusbazillen; in diesem Falle wird nämlich das Serum sowohl nach dem Sättigungsversuch mit dem Paratyphusdiagnostikum wie auch mit dem Typhusdiagnostikum seine agglutinierende Fähigkeit für die andere Emulsion beibehalten.

Diese Eigentümlichkeiten des Agglutinationsphänomens lassen sich sehr gut mit der großen Affinität des Antigens für den entsprechenden Antikörper erklären, weswegen eben nur das Antigen imstande ist, dem Serum seinen ganzen Antikörpergehalt zu entziehen und bestrebt ist, sich damit zu sättigen. Sie können in ganz besonderen Fällen und zu Studienzwecken mit Erfolg angewendet werden, aber sie vermögen nicht den unbestreitbaren Wert der Widalschen Reaktion herabzusetzen. Der Kliniker muß nur die Seroagglutination ebenso wie die anderen typischen Symptome richtig einzuschätzen wissen und seine Diagnose nach dem ganzen Bilde des Krankheitsverlaufes stellen; in diesem Sinne wird die Widalsche Reaktion ihm ein diagnostisches Hilfsmittel liefern, welches einen sonst begründeten Verdacht in volle Gewißheit zu verwandeln vermag.

Freilich hat der Weltkrieg die Grenzen, innerhalb deren die Resultate der Serodiagnose verläßlich sind, beträchtlich verschoben. Eine neue Ursache positiver Reaktionen, die vor dem Kriege nur sehr selten beobachtet wurde, war die systematische Anwendung der Typhusschutzimpfung in großem Maßstabe bei den kämpfenden Heeren; denn der Impfstoff verursacht, ebenso wie die Spontaninfektion, die Bildung von Agglutininen und ihr Auftreten im Blut. Deshalb kann der positive Ausfall der Widalschen Probe bei geimpften Soldaten eine ganz andere Bedeutung haben, als wir sie bis jetzt kennen gelernt haben; es kann einfach das Zeichen der stattgehabten Impfung sein und nicht der Ausdruck einer bestehenden oder überstandenen Typhusinfektion, wie man bis jetzt annahm. Tatsächlich findet man bei Geimpften wenige Tage nach der Impfung, zuweilen nach der ersten, oft erst nach der zweiten und dritten, einen Agglutinationswert, der die Höhen von 1:50 und 1:100, die allgemein als positiver Widal gelten, überschreitet und oft 1:1000 und mehr erreicht. Zweifellos wird die gewöhnliche Serumdiagnose durch diese Befunde bei Geimpften, so lange die agglutinierende Wirkung der Schutzimpfung bestehen bleiben kann, nicht verwendbar sein. Dieser Zeitraum ist kurz, er dauert ungefähr 2 Monate und nur ausnahmsweise kann er sich auf 6 Monate erstrecken. Doch scheint es uns auch aus einem anderen Grunde übertrieben, die Widalsche Probe deswegen diskreditieren zu wollen; abgesehen von der Tatsache, daß nach Moreschi der Agglutinationsversuch nach den drei subkutanen Impfungen bei 82% der Untersuchten negativ ausfällt, ist dem Widal unter den nicht Geimpften noch ein beträchtlicher Wirkungskreis vorbehalten, weil auch in einem Volk in Waffen die regelmäßig geimpften Soldaten nicht einmal $^1/_{10}$ der Gesamtbevölkerung darstellen, in der die Schutzimpfungen nur ausnahmsweise vorgenommen werden.

Trotzdem behält die Widalsche Probe ihren Wert auch bei Geimpften, wenn man das genaue Datum der Schutzimpfung kennt und also berechnen kann, ob der Zeitraum von der Vakzination bis zum Auftreten der verdächtigen Erkrankung länger ist als die 2 Monate, während deren Dauer die Agglutinine nach der Schutzimpfung bestehen bleiben; doch kann die Reaktion auch in dieser Zeit verwertet werden, wenn man sie dem Falle anzupassen versteht. Ist z. B. die Schutzimpfung

nur mit Typhusvakzine vorgenommen worden, so ist kein Grund, die Paratyphusagglutination anzuzweifeln, wo doch die Hälfte aller typhoiden Infektionen im Heere Paratyphusinfektionen waren; ist hingegen eine gemischte Blutimpfung gemacht worden, die vorwiegend aus Typhusbazillen und zum kleineren Teil aus Paratyphus besteht, so spricht das Vorwiegen der Agglutination dieses letzteren Keimes für das Bestehen der Paratyphusinfektion. In beiden Fällen, sowohl wenn die vorausgegangene Vakzination nur gegen Typhus als auch wenn sie bivalent war, bleibt noch immer ein anderer Weg offen, nämlich die Agglutinationsprobe zu wiederholen, um den einfachen Versuch durch eine Kurve zu ersetzen: es ist dies ein sehr zweckmäßiger Ausweg, weil der auf eine vorausgegangene Impfung zurückzuführende Wert beständig bleibt oder abfällt, während eine Erhöhung des Agglutinationstiters auf eine bestehende Infektion hinweist und es möglich macht, sie zu diagnostizieren. In Wirklichkeit hat also die Widalsche Probe nicht an Bedeutung verloren, sondern gewonnen und ist nie so oft wie jetzt angewendet worden. In der Choleraprophylaxe haben die bakteriologischen Untersuchungen ungeheure Ziffern erreicht, beim Typhus dagegen sollten die Versuche wirklich in großem Stil mit Verwendung der Widalschen Reaktion, natürlich innerhalb der gegebenen Grenzen und von Kulturversuchen kontrolliert, ausgeführt werden.

Die Versuche wurden über die gewohnten Werte hinausgeführt, um den veränderten Arbeitsbedingungen zu genügen, und in den Sanitätslaboratorien wurde die Technik verfeinert und genauer ausgearbeitet, indem die Messung nach Tropfen durch die genauere mittels Pipetten ersetzt wurde. Eine genaue Serodiagnose mit wenig Serum kann man z. B. ausführen, indem man die Verdünnungen nach folgendem Schema herstellt:

Eprouvette					Verdünnung
Eprouvette Nr. 1:	0·08 cm^3 Serum + 1·92 cm^3	physiologische Kochsalzlösung	=	Verdünnung	1 : 25
„ „ 2:	1 „ Nr. 1 + 1 „		=	„	1 : 50
„ „ 3:	1 „ „ 2 + 1 „		=	„	1 : 100
„ „ 4:	1 „ „ 3 + 1 „		=	„	1 : 200
„ „ 5:	1 „ „ 4 + 1 „		=	„	1 : 400
„ „ 6:	1 „ „ 5 + 1 „		=	„	1 : 800

usw.

Zu jeder Eprouvette, die also 1 cm^3 der verschiedenen Verdünnungen enthält, wird 1 cm^3 der Bazillenemulsion zugesetzt, so daß jede den doppelten Wert wie im Schema angegeben enthält; so wird der Rest der Probe Nr. 1 1 : 50 sein, Nr. 2 1 : 100, Nr. 3 1 : 200 usw. Die Ablesung der Resultate erfolgt, nachdem die Röhrchen 24 Stunden bei Zimmertemperatur belassen werden.

Die Technik der Seroagglutination ist heute schon so vorgeschritten, daß sie gestattet, auf einfache Weise ohne Mikroskop und Kulturverfahren die verschiedenen Arten und Unterarten der Bakterien zu unterscheiden, die imstande sind, klinisch ähnliche Infektionen zu erzeugen. Die Serodiagnostik übertrifft aber die bakteriologische Untersuchung an Empfindlichkeit und Einfachheit, indem sie auch minimale, ganz unmerkliche Unterschiede zwischen einzelnen Bakterienarten aufzudecken vermag; sie erlaubt uns, ähnliche Krankheitsformen, die noch vor wenigen Jahren verwechselt und auf ein einziges krankmachendes Agens zurückgeführt wurden, zu analysieren und ohneweiters zu unterscheiden, so z. B. die typhösen Fieber, die durch den Eberthschen Bazillus veranlaßt werden, von jenen mit Fieber einhergehenden Darmaffektionen, die den Paratyphusbazillus zum Erreger haben.

Die unbestreitbaren Erfolge der Seroagglutination bei der Diagnose der infektiösen Fieber, die der Typhusgruppe zuzuschreiben sind, verleiteten dazu, diese Methode auch auf andere Krankheitsformen auszudehnen. Die diesbezüglichen Untersuchungen hatten zweierlei diagnostische Ziele: 1. auch bei anderen Krankheiten spezifische agglutinierende Reaktionen nach dem Typus der Widalschen zu finden; 2. mittels agglutinierender Sera die Erkennung von Erregern sicher zu ermöglichen, die auf bakteriologischem Wege isoliert worden waren.

Klinische Versuche.

Die erstgenannten Versuche stießen jedoch bei vielen Krankheiten auf ernste Schwierigkeiten, die ihre allgemeine Verbreitung als diagnostische Hilfsmittel am Krankenbett verhinderten. Bei einigen Krankheitsformen vom Typus der hämorrhagischen Septikämien, wie z. B. bei der Pest, ist die Bildung von Agglutininen zu spärlich (1:3 bis 5) und träge, bei anderen Formen, wie bei der Tuberkulose, ist die Abweichung von der Norm so unbedeutend, daß die Resultate unsicher und zweifelhaft und den anderen Mitteln zur Feststellung der Diagnose absolut nicht gleichwertig sind; bei der Pest liefern die Untersuchung der Drüsen und die Thermopräzipitinreaktion, bei der Tuberkulose der klinische und mikroskopische Befund und die Tuberkulinreaktionen viel präzisere und verläßlichere Ergebnisse. Bei anderen klinisch dunklen Fällen von Infektionen durch Bacterium coli besteht die Agglutination des Serums nur gegen den kausalen pathogenen Erreger in genügender Stärke.

Die Bazillenaufschwemmung des Diagnostikums für Bacterium coli muß daher eine ganze Reihe verschiedener Stämme aus der Koligruppe enthalten, weil die Wahrscheinlichkeit einer positiven Reaktion mit der Zahl der verwendeten Stämme steigt; je größer ihre Anzahl, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, daß unter ihnen sich einer befindet, der auf das im verdächtigen Serum enthaltene Agglutinin abgestimmt ist. Es gibt schließlich Mikroorganismen, wie die Streptokokken, die Milzbrandbazillen, die an und für sich eine starke Tendenz von selbst zu agglutinieren aufweisen, ohne Einwirkung spezifischer Agglutinine.

Serodiagnose bei Maltafieber.

Andere Keime sind wieder für die agglutinierende Wirkung des normalen Serums außerordentlich empfindlich; trotzdem trübt ihre leichte Agglutinierbarkeit die serodiagnostische Reaktion nicht, weil die agglutinierende Fähigkeit des Krankenserums weitaus größer ist als die des normalen Serums. Beim Maltafieber z. B. kann die Agglutination gewisser Stämme des Micrococcus melitensis auch mit normalem Serum erzielt werden; wenn man es aber weiter als bis 1:500 verdünnt, so hat die agglutinierende Wirkung des Gesunden ihre Grenze erreicht, während die des Kranken bis zu Verdünnungen von 1:1000 bis 5000 und noch weiter bestehen bleibt. Die Agglutinationsprobe kann jedoch bei Verwendung weniger agglutinierbarer Stämme in Verdünnungen von 1:50 bis 100 ein leistungsfähiges diagnostisches Hilfsmittel beim Maltafieber bilden.

Die tunlichst mit inaktiviertem Serum anzustellende Agglutinationsprobe liefert dann innerhalb dieser Grenzen wertvolle Anhaltspunkte bei der Diagnose des Maltafiebers; es ist mit ihrer Hilfe auch gelungen, in den Ziegen eine der häufigsten Infektionsquellen zu entdecken, da nicht bloß das Serum dieser Tiere, sondern auch die leichter zu beschaffende Milch den M. melitensis agglutiniert.

Zammittest.

Diese Probe, die zuerst von Zammit vorgeschlagen wurde und daher auch kurzweg „Zammittest" genannt wird, ist folgendermaßen auszuführen:

Zu der Probe braucht man eine Emulsion des Micrococcus melitensis, die man herstellt, indem man eine gut entwickelte Agarkultur in 5 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung fein verteilt, dann die Flüssigkeit 15 Minuten lang auf 55—60° erwärmt und hierauf $^1/_2$% Formalin hinzufügt. Die Versuche werden mit Milchverdünnungen zwischen 1 : 7 und 1 : 30 ausgeführt — denn bei 1 : 5 kann auch normale Milch positiv

reagieren — und zwar folgendermaßen: man mischt einen Tropfen verdünnter Milch mit einem Tropfen Bazillenemulsion in einem Kapillarröhrchen, das an der Flamme zugeschmolzen und dann 12 Stunden in aufrechter Stellung bei Zimmertemperatur gehalten wird. Dann findet man, bei positivem Ausfall der Reaktion, nach 12 Stunden oder auch früher, daß der Rahm an die Oberfläche gestiegen ist, die Bazillen auf den Boden gesunken sind, während sich in der Mitte eine durchsichtige, milchig-weißliche Schicht gebildet hat.

Genickstarre.

Bei Genickstarre agglutiniert das Krankenserum den Meningokokkus oft schon in den ersten Tagen, es werden jedoch nur selten Werte über 1:50, höchstens 1:100 beobachtet; auch tritt die Reaktion häufig etwas verzögert auf und zeigt sich auch bei Bazillenträgern und Geimpften. Es ist zu beachten, daß in diesem Falle die Proben während 24 Stunden bei 55° zu verweilen haben, zum Unterschied von Versuchen mit anderen Keimen, die bei Zimmertemperatur und bei 37° im Thermostaten gute Resultate geben.

Seuchenhaftes Verwerfen.

Beim seuchenhaften Verwerfen der Rinder bildet die Widalsche Probe, von der bakteriologischen Untersuchung unterstützt, ein gutes Hilfsmittel: sie ermöglicht die Diagnose vor und nach dem Abortus, so daß auf Grund der Resultate die weitere Verbreitung der Krankheit durch rechtzeitige Erkennung der Krankheitsherde und energisches Einsetzen der hygienischen und prophylaktischen Maßnahmen verhütet werden kann. Das Serum verseuchter Tiere, sowohl natürlich als experimentell mit dem Bangschen Bazillus infizierter Tiere, agglutiniert Abortuskulturen im Verhältnis von 1:30 bis 200 und darüber.

Rotz.

Was die Diagnose des Rotzes mittels der Agglutination anlangt, so muß zugegeben werden, daß hier die Probe nicht ohneweiters vom Praktiker wie die Widalsche Reaktion ausgeführt werden kann; die Schwierigkeit der Beschaffung eines geeigneten konstant agglutinierbaren Keimes, die Gefährlichkeit der Manipulationen, die Notwendigkeit einer strengen Kontrolle der Bakterienemulsion und der exakten Bestimmung des Agglutinationstiters, sowie die schwierige Ablesung und Deutung der Resultate verweisen die Probe in das Laboratorium, wo sie von gut geschulten Technikern ausgeführt werden soll. Es hat jedoch die ursprüngliche Technik, die sich im übrigen an die anderen makroskopischen Agglutinationsproben anlehnt, eine Verbesserung erfahren, indem die Sedimentierung durch Anwendung

der Zentrifuge merklich beschleunigt wurde, so daß nunmehr die Agglutinationswerte rasch aufzufinden sind. Da aber der Agglutinationstiter des Normalserums und des Rotzserums ein Grenzgebiet zwischen 1:400 und 1:1000 aufweist, so ist die Beurteilung des Ausfalles nicht immer leicht, sondern erheischt eine gewisse Vorsicht. Bei einem Agglutinationstiter unter 1:400 kann das Bestehen der Rotzinfektion nur dann ausgeschlossen werden, wenn das betreffende Pferd mindestens 2 Wochen früher der Ansteckungsgefahr entzogen wurde; andernfalls ist die Probe nach 14 Tagen zu wiederholen, damit der Organismus zur etwaigen Bildung von Agglutininen Zeit gewinnt. Fehlen die auf Rotz deutenden Krankheitserscheinungen, so sprechen selbst Werte über 1:1000 nicht für eine positive Diagnose, falls der Verdacht einer vorausgegangenen Malleineinspritzung besteht, welche als Agglutinogen wirkend. die Agglutininbildung auch bei nicht rotzkranken Pferden anzuregen vermag. In zweifelhaften Fällen wäre es ratsam, die Agglutination mit verschiedenen Serumproben zu wiederholen, um eine Kurve herstellen zu können. Bei der Beurteilung der Agglutinationsproben halte man sich vor Augen, daß hohe Agglutinationswerte für eine frische Rotzinfektion sprechen und daß chronischer Rotz, der länger als 6 Monate besteht, mittels der Agglutinationsmethode nicht nachgewiesen werden kann (siehe Hämoagglutination im achten Kapitel).

Ermittlung von Bazillenträgern.

Bei gewissen Krankheiten des Verdauungstraktes, wie bei der Dysenterie und der Cholera, liefert die Agglutinationsprobe mit dem Krankenserum weniger präzise Resultate als die bakteriologische Untersuchung der Fäzes. Sie kann jedoch dazu dienen, durch den positiven Ausfall mit dem Serum Genesender und Geheilter latente Infektionsherde aufzudecken; bei Cholera, bei Dysenterie, bei Typhus, bei Meningitis liefern die im Blute nachweisbaren Agglutinine also ein nicht zu verachtendes Hilfsmittel bei der Suche nach sogenannten Bazillenträgern. Beim Flecktyphus hat die agglutinierende Wirkung des Krankenserums auf den von einem Flecktyphusfall isolierten Bazillus Proteus x 19 diagnostische Bedeutung. Die Agglutination, die hier den Namen „Weil-Felixsche Reaktion“ führt (nach den Forschern, die sie zuerst beobachteten), übertrifft die Widalsche Probe an Verläßlichkeit; sie fällt mit andern Seris bei Verdünnungen über 1 : 100 negativ aus, erreicht aber bei Seris von

Weil-Felixsche Reaktion.

Flecktyphuskranken (nach zweistündigem Verweilen im Thermostaten) Werte von 1 : 1000—2000, und sogar bis 1 : 10.000 bis 20.000, und zwar in einer aufsteigenden Kurve, die am 5. Tage der Erkrankung beginnt. Zum Unterschied von der Widalschen Probe fehlt aber noch die theoretische Erklärung des Phänomens, denn die ätiologische Bedeutung des Proteus beim Flecktyphus ist noch gänzlich ungeklärt.

Die spezifische Agglutination mittels sehr hochwertiger Sera, die durch künstliche Immunisierung bei Tieren erhalten wurden, erleichtert endlich in vielen Fällen außerordentlich die Isolierung und Identifizierung der Erreger und trägt zur Sicherung der Diagnose nicht wenig bei. Die Resultate sind deshalb von überzeugender Deutlichkeit, weil man durch künstliche Immunisierung bei Tieren agglutinierende Sera von außerordentlicher Aktivität und von weit höherem Titer als bei Kranken erhält.

So ist z. B. bei der Pest die Bildung der Agglutinine beim Kranken zu spärlich, um zur Serodiagnose verwendet werden zu können, bei immunisierten Tieren steigt sie leicht bis auf 1 : 500 und höher, so daß dieses Serum zur Identifizierung des Pestbazillus dienen kann.

Agglutinierende Sera für die bakteriologische Diagnose.

Die Agglutinationsprobe mittels eigens hergestellter agglutinierender Sera leistet weiters in Fällen von Fleischvergiftungen gute Dienste, um die Identifizierung der aus den kranken Tieren gezüchteten Keime mit den vom Menschen isolierten zu erzielen, sowie um die verschiedenen Gruppen der Bakterien, die Fleischvergiftungen hervorrufen, voneinander zu unterscheiden. Ebenso nützlich erweisen sich hochwertige spezifische agglutinierende Sera, die durch Immunisierung von serumliefernden Tieren gewonnen werden, zur Klassifizierung der verschiedenen Pneumo- und Meningokokkenstämme, des Dysenteriebazillus, sowie bei der Identifizierung des Bangschen Erregers des seuchenhaften Verwerfens.

Bei den hämorrhagischen Septikämien konnte die Serumagglutination das Bestehen einer engen Verwandtschaft zwischen den einzelnen Vertretern dieser Gruppe bestätigen, die man bereits auf Grund ihrer morphologischen und biologischen Merkmale angenommen hatte. Die agglutinierende Wirkung des antiinfektiösen Rauschbrandserums wurde mit Erfolg zur Differentialdiagnose zwischen Rauschbrand, malignem Ödem und Bradsot

herangezogen: es agglutiniert nämlich Bradsotserum und Immunserum gegen malignes Ödem sowohl die Bradsotbazillen als jene des malignen Ödems, hingegen Rauschbrandbazillen nicht; umgekehrt agglutiniert Rauschbrandserum Rauschbrandkulturen, und nur diese, bis zu einem Titer von 1 : 5000, und liefert somit ein streng spezifisches diagnostisches Hilfsmittel.

Die agglutinierenden Immunsera können von einem serotherapeutischen Institut gebrauchsfertig mit Angabe des Titers bezogen werden. Es werden verschiedene Verdünnungen des Serums mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 1 : 10, 50, 100, 500, 1000 usf. bis zu der als Titer angegebenen Grenze hergestellt und mit je einer Öse der fraglichen Kultur auf Schrägagar beschickt; oder man schwemmt die Kultur in 10 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung auf und mischt je 1 cm^3 der Bakterienaufschwemmung mit derselben Menge der verschiedenen Serumverdünnungen, wodurch natürlich die einzelnen Proben auf die Hälfte verdünnt werden, was bei Ablesung der Resultate berücksichtigt werden muß. Es sind auf jeden Fall zwei Kontrollproben anzustellen: die eine, um auszuschließen, daß die verwendete Bakterienemulsion oder die homogene Suspension einer Öse des fraglichen Bakterienserums in 1 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung spontan agglutiniert; die zweite zur Kontrolle des Titers, um sich zu überzeugen, daß eine Öse des zu untersuchenden Bakterienstammes, emulgiert in 1 cm^3 der Verdünnung, wie sie der Titer des Serums angibt, wirklich agglutiniert wird. Die Aufschwemmungen sollen alle eine gleichmäßige Trübung aufweisen. gröbere Flocken sind durch Schütteln oder Ein- und Ausblasen der Suspensionen mittels Pasteurscher Pipetten zu beseitigen. Zur Anstellung der Proben eignen sich am besten Standgläschen von etwa 8 *mm* lichter Weite und einer Höhe von 10 *cm*, wie sie in Fig. 11 abgebildet sind. Die Ablesung der Resultate erfolgt nach 12- bis 14stündigem Verweilen der Gläser bei Zimmertemperatur, wobei diejenigen Proben als positiv gelten, bei denen die Bakterienleiber, wie schon anderwärts gesagt wurde, im konischen Ende der Gläschen als Bodensatz zusammengeballt liegen und die Flüssigkeit darüber sich aufgehellt hat. Bleibt nach wie vor die homogene Trübung der Aufschwemmung wie in der Kontrolle ohne Serum bestehen und es bildet sich kein Bodensatz, so ist das Resultat negativ.

Eine Frage von großer praktischer Bedeutung ist die, wie hoch der Agglutinationswert sein muß, damit der zu untersuchende Keim sicher identifiziert werden kann.

So z. B. bei der Untersuchung der Fäzes bei der Choleraprophylaxe, wo sich die Notwendigkeit herausgestellt hat, für das agglutinierende Choleraserum eine Verdünnungsgrenze zu bestimmen, über die hinaus die Zugehörigkeit eines Keimes zu den choleraartigen ausgeschlossen erscheint und er als echter

Choleravibrio anzusehen ist: diese Grenze wurde im allgemeinen bei der Verdünnung 1 : 1000 angenommen. Die reiche Erfahrung an Cholerainfektionen in den Kriegsjahren hat es ermöglicht, empirisch einen genauen Unterschied zwischen dem Kochschen Vibrio und den choleraähnlichen, auch bezüglich der Agglutination, festzustellen. Aber nicht bei allen Keimen, zu deren Klassifizierung die Agglutinationsprobe mit Immunserum prinzipiell nötig ist, ist es gelungen, den Grenzwert zu bestimmen, der die Zugehörigkeit zur fraglichen Spezies bestimmt. Man kann im allgemeinen sagen, daß die Agglutinationsprobe um so verläßlicher sein wird, je größer die Agglutinierbarkeit des zu untersuchenden Keimes ist, mit anderen Worten, je mehr sie sich dem Titer des Serums nähert, das heißt, den angegebenen Grenzwerten für das Agglutinationsvermögen des verwendeten Immunserums. Wenn jedoch die Agglutinationsversuche nicht die positiven Resultate ergeben, die man auf Grund der anderen Charakteristika des Keimes erwarten darf, so muß man sich hüten, ihnen eine entscheidende Bedeutung zuzuschreiben; man muß bedenken, daß gewisse frisch isolierte Stämme schwer agglutinierbar sind und erst in weiteren Generationen eine größere Agglutinierbarkeit erreichen, und daß es auch solche gibt, die gar nicht agglutinierbar sind. In dieser Hinsicht ist besonders das Verhalten der Dysenteriebazillen bei der Agglutination sehr lehrreich. Bei dieser Gruppe von Keimen treten Erscheinungen auf, die uns zur Vorsicht mahnen, wenn wir den Agglutinationsproben als Mittel zur Klassifizierung der Keime eine absolute Bedeutung zuschreiben wollten, und uns davon überzeugen, daß wir die bakteriologische Diagnose nicht von einer Immunitätsreaktion, sondern nur von dem Gesamtkomplex der Laboratoriumsversuche abhängig machen dürfen. Diese Zurückhaltung ist um so berechtigter, wenn so verschiedene Bakterienarten wie z. B. der Micrococcus melitensis und der Bazillus des seuchenhaften Verwerfens, der letztere vom Immunserum gegen Maltafieber und der erstere von dem gegen seuchenhaftes Verwerfen, in fast gleichem Verhältnis agglutiniert werden, so daß auf Grund der bloßen Agglutination die beiden Mikroorganismen geradezu identisch erschienen. Dies ist eine beachtenswerte Mahnung, bakteriologische Diagnosen immer auf alle nur möglichen Methoden zu stützen: unter diesen ist die Agglutination mit dem Immunserum von größtem Wert

wegen ihrer leichten Ausführbarkeit, ohne daß man ihr darum eine absolute diagnostische Bedeutung zuschreiben dürfte.

Paraagglutination.

So wurde z. B. gerade bei der Gruppe der Dysenteriebazillen eine als Paraagglutination bezeichnete paradoxe und eigentümliche Erscheinung beschrieben, die bei einigen zur Bacterium coli-Gruppe gehörigen Keimen auftritt; diese sind nämlich bis zu einem hohen Grad, bis zur äußersten Grenze von dem spezifischen Serum gegen den Dysenteriebazillus Shiga agglutinierbar.

Agglutination im Status nascendi.

Eine weitere Anwendung finden die agglutinierenden Immunsera in der sogenannten „Agglutination im Status nascendi", die von Bandi zur Identifizierung des Choleravibrios in mit Krankenfäzes geimpften Anreicherungsboden vorgeschlagen wurde: es bewirkt nämlich der Zusatz eines agglutinierenden Choleraserums zum Peptonwasser, daß der Kommabazillus in Form von im Status nascendi zu Flocken agglutinierten Vibrionen sich entwickelt, welche die Diagnose in wenigen Stunden ermöglichen.

Das Bandische Verfahren zum Nachweis des Cholerabazillus gestaltet sich folgendermaßen: Ein steriles trichterförmig auslaufendes Reagensröhrchen, das mittels eines kleinen Gummischlauches mit einem den Boden bildenden Röhrchen verbunden ist (siehe Fig. 12), wird mit 5 cm^3 einer 1%igen wässerigen Peptonlösung und mit 5 cm^3 1%iger Chlornatriumlösung beschickt. Zu dieser Mischung wird Choleraserum in einer Dosis zugesetzt, daß die Flüssigkeit einen Agglutinationswert enthält, der größer ist als die Hälfte des Titers des Serums (zur Vermeidung etwaiger Gruppenagglutinationen mit anderen Keimen). Die Flüssigkeit wird hierauf mit einer Öse der verdächtigen Fäzes geimpft und in dem auf 37° eingestellten Brutschrank aufbewahrt.

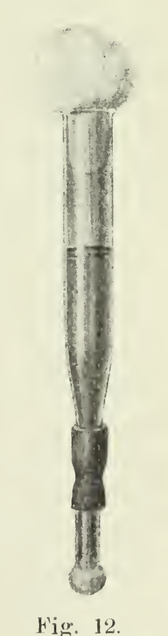


Fig. 12.
Röhrchen zur Reaktion nach Bandi.

Enthält das Material Cholerakeime, so treten nach 2—7 Stunden in der Nährflüssigkeit zahlreiche kleine Flocken auf, die aus im Status nascendi agglutinierten Keimen gebildet sind. Diese Flocken sammeln sich zuerst im engeren Teil des Röhrchens an und fallen endlich zu Boden. Will man den Bodensatz mikroskopisch untersuchen, so genügt es, die Flüssigkeit vorsichtig umzugießen, durch Abnahme des Gummischlauches das untere Röhrchen von dem oberen zu trennen und von den agglutinierten Vibrionen Präparate anzulegen.

Diese agglutinierenden Immunsera geben uns daher eine sehr leistungsfähige Waffe im Kampfe gegen die Epidemien in die Hand, indem sie eine rasche Diagnose der Krankheit ermöglichen und so die conditio sine qua non erfüllen, um stets rechtzeitig die notwendigen Abwehrmaßregeln treffen zu können.

Sechstes Kapitel.

Präzipitine.

Ausflockungs- und Ringprobe. — Bakterienpräzipitation. — A. Ascolische Thermopräzipitation bei Milzbrand, Rotlauf, Rauschbrand, Paratyphus, Fleischvergiftungen, Rinderpest, usw. -- Serodiagnose mittels der Präzipitine bei Rotz, Tuberkulose, Syphilis, Echinokokkose. — Angewandte biologische Reaktionen. — Spezifität. — Forensischer Nachweis von Blutflecken nach der Uhlenhuthschen Methode. — Differenzierung von Fleischarten usw.

Ausflockungsreaktion.

Die spezifischen antibakteriellen Immunsera sind auch wegen einer anderen Eigenschaft, die man häufig bei ihnen findet, zu diagnostischen Reaktionen geeignet: sie rufen nämlich in den klaren Lösungen der Bakterienextrakte eine Niederschlagsbildung hervor. Die in diesen Seris enthaltenen Präzipitine für das Bakterienprotoplasma verursachen innerhalb der Flüssigkeiten, in die protoplasmatische, aus dem Leibe oder dem Stoffwechsel der Bazillen stammende Substanzen eingedrungen sind, einen Gerinnungsvorgang, analog dem Phänomen der Agglutination. Diese Reaktion zeigt sich in dem Gemisch in Gestalt eines meßbaren flockigen Niederschlags, oder ist noch deutlicher zu beobachten als eine ringförmige, richtiger scheibenförmige Trübung an der Berührungsfläche, wenn man den Kunstgriff anwendet, die zu untersuchende Flüssigkeit über das präzipitierende Serum zu schichten, wie

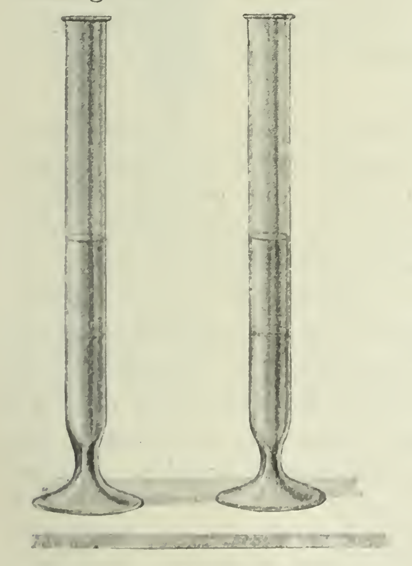


Fig. 13.
Präzipitation, Ringprobe
negativ **positiv**

man es z. B. mit dem Harn bei der Hellerschen Eiweißprobe zu machen pflegt. Es ist zweckmäßig, die Reaktion in besonderen Röhrchen mit Fußgestell auszuführen, die ungefähr 7 *cm* hoch sind und einen inneren Durchmesser von 7 *mm* haben (Fig. 13).

Bakterien-präzipitation.

Die Präzipitinreaktion wurde mit ausgezeichneten Resultaten zur Diagnose des Milzbrandes angewendet. Die in einigen Milzbrandseris entdeckten Präzipitine sind nicht bloß imstande, bei Berührung mit Extrakten des Bacillus anthracis oder an Milzbrandbazillen reichen Milzextrakten das Auftreten der Schichtprobe hervorzurufen, sondern sie lassen sich auch mit sehr gutem Erfolg zum Nachweis von Resten der Bakterienleiber noch dort benützen, wo diese weder durch die mikroskopische noch durch die bakteriologische Untersuchung mehr nachweisbar sind. Die Stoffwechselprodukte und Protoplasmabestandteile der Erreger können nämlich auch nach dem Verschwinden der Bazillenleiber vorhanden sein und vom spezifischen präzipitierenden Serum nachgewiesen werden, wenn jede andere Spur des Keimes verschwunden ist. Es gelingt in Extrakten milzbrandiger Objekte, z. B. in Auskochungen der Milz an Anthrax gefallener Tiere, mit Hilfe des Milzbrandpräzipitins den Nachweis von milzbrandigem Protoplasma zu erbringen, wenn die Isolierung der Keime wegen vorgeschrittener Fäulnis nicht mehr möglich ist und auch die Tierversuche zu keinem Ergebnis führen.

A. Ascolische Thermopräzipitation

Die Thermoresistenz der Präzipitinogene, d. h. derjenigen Substanzen des infizierten Materials, die mit dem Serum reagieren, verleiht dem Versuch das Gepräge der größten Einfachheit und ermöglicht dessen Anstellung in wenigen Minuten. Man braucht nur das fragliche gut zerstückelte Material in dem 5- bis 10fachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung zu kochen, nach dem Erkalten durch besondere Filter zu filtrieren und das Filtrat zur Schichtprobe zu verwenden. Die Anstellung der Probe erfordert hochwertige und klare präzipitierende Sera, wie sie von serumliefernden Instituten, ebenso wie Milzextrakte von an Milzbrand verendeten Kühen und das notwendige Normalserum zur Kontrolle zu beziehen sind.

bei Milzbrand.

Das Schema für eine Milzbranddiagnose mittels der Präzipitinreaktion gestaltet sich im Laboratorium folgendermaßen:

a) Präzipitierendes Serum + Extrakt von dem zu prüfenden Material
b) „ „ + Extrakt aus der Milz eines an Milzbrand verendeten Tieres (Testextrakt)

c) Präzipitierendes Serum + Extrakt aus einer Milzbrandkultur auf Schrägagar (Testextrakt)
d) „ „ + Extrakt aus sicher milzbrandfreiem Material
e) „ „ + physiologische Kochsalzlösung
f) Normalserum + Extrakt des zu prüfenden Materials
g) „ + Extrakt aus der Milz eines an Milzbrand verendeten Tieres.

Bei Ausführung aller dieser Kontrollversuche, wie sie auch bei den anderen serologischen Methoden gefordert werden, und Anstellung der Hauptprobe mit dem Extrakt des fraglichen Materials in verschiedenen Verdünnungen, kann die Methode allen Anforderungen auf Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit Genüge leisten.

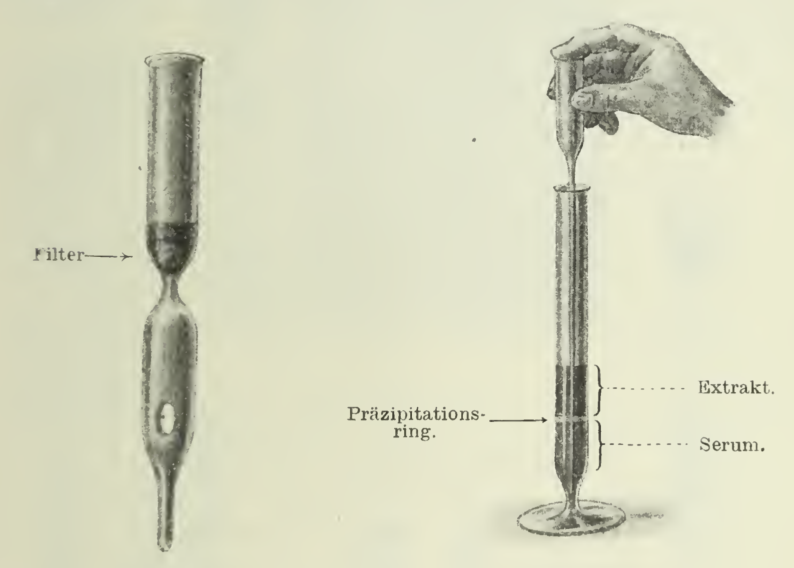


Fig. 14. Fig. 15.

Thermopräzipitation bei Milzbrand nach A. Ascoli.

Die Gewinnung der Extrakte erfolgt in der Weise, daß man das verdächtige Material einfach zerreibt oder zerzupft und dann in einem Reagensrohr mit der 5- bis 10fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung übergießt, auf einige Minuten in ein kochendes Wasserbad stellt oder auf einer Gas- oder Spiritusflamme kocht und nach dem Erkalten durch ein dünnes Filter-Fließpapier filtriert, und zwar in ein verengtes Röhrchen wie Fig. 14 zeigt; dieses wird aus einem gewöhnlichen Röhrchen geblasen und das Filtrieren, wenn nötig, durch Zentrifugieren unterstützt.

Zur Ausführung der Reaktion dienen kleine Standzylinder mit etwa 8 *mm* lichter Weite und einer Höhe von 7 *cm*, die vor dem Gebrauch gut zu waschen, mit Alkohol und Äther zu trocknen und unmittelbar vor der Probe mittels eines Wattebausches gut zu säubern sind. Eine Sterilisierung ist dann nicht nötig.

Im Laboratorium, wo jederzeit Pasteursche Pipetten bereit liegen. ist die Schichtprobe in der Weise anzustellen, daß man zuerst die Extrakte, bzw. die physiologische Kochsalzlösung, in die Standröhrchen in der Höhe von etwa 1 *cm* einfüllt und das Serum dann mit Hilfe Pasteurscher Pipetten unter dieselben schichtet (siehe Fig. 15). Selbstverständlich sind auch die Pipetten vor dem Gebrauch peinlichst zu reinigen; es gehört zu jeder Probe frische physiologische Kochsalzlösung.

Bei gleichzeitiger Anstellung größerer Versuchsreihen hat die Prüfung des präzipitierenden Serums bloß zu Anfang und Ende der Versuche zu erfolgen, das gleiche gilt für die Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung und für jene zwischen Normalserum und Milzbrandextrakt, so daß die fortlaufenden Untersuchungen sich auf die Proben mit dem präzipitierenden Serum und die Kontrolle mit dem Normalserum derselben Tierart beschränken können.

In den Händen des praktischen, technisch nicht geschulten und über kein Laboratorium verfügenden Tierarztes wäre der Versuch in dieser Form zu kompliziert. Wir ersannen daher einen Apparat, der die Filtrierung und automatische Schichtung des Extraktes oberhalb des Serums bewerkstelligt. Dieser Apparat (siehe Fig. 16) besteht aus einem kleinen Standzylinder und einem Trichterchen, das mit einem Filter versehen ist und in ein winkelig gebogenes Kapillarröhrchen ausläuft. Das bereits an der Bezugsquelle geprüfte präzipitierende Serum ist in Spezialphiolen (siehe Fig. 17) abgefüllt, an deren unterem Ende eine kleine Erweiterung (r) zum Auffangen und eine Verengerung (s) zum Zurückhalten der Spontantrübungen des Serums angebracht sind. In dem sogenannten Anthraxdiagnostikum werden dem Praktiker, in einer Schachtel zusammengestellt, alle nötigen Behelfe geboten, um die Reaktion an Ort und Stelle in einer Viertelstunde ausführen zu können. Der Verzicht auf die Kontrollproben vereinfacht die Ausführung der Probe und läßt sich hier entschuldigen, da beim frischen Material, an dem das Verfahren in dieser Form zur Anwendung kommt. einige Fehlerquellen wegfallen dürften, gegen die man am verfaulten Material der Nachprüfungsstationen eher anzu-

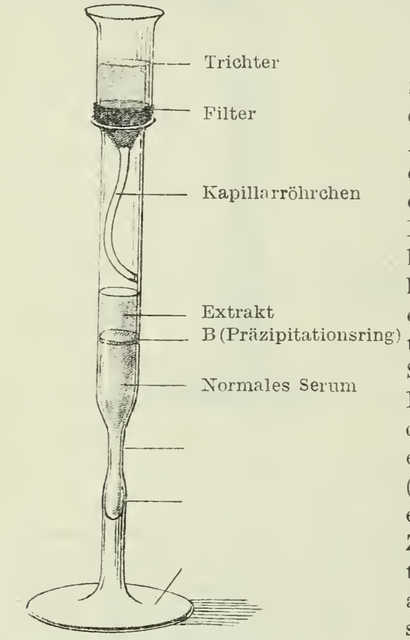


Fig. 16.
Ascolis Apparat für die Ringprobe.

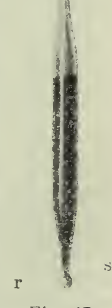
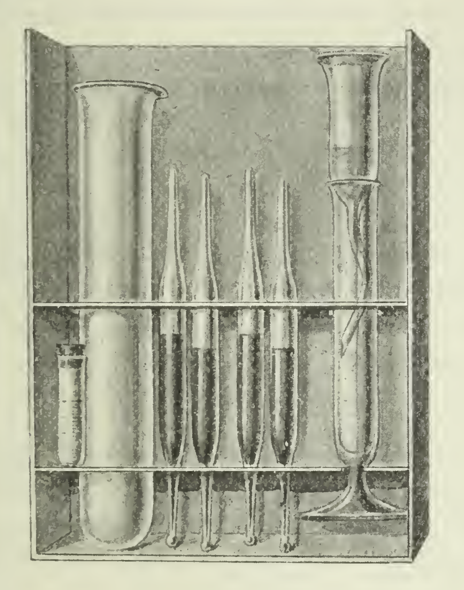


Fig. 17.
Spezialphiole.

kämpfen hat. Einen absolut sicheren wissenschaftlichen Wert kann die so vereinfachte Thermopräzipitinreaktion selbstverständlich nicht beanspruchen, aber sie wird in milzbrandverdächtigen Fällen die Diagnose wesentlich erleichtern.



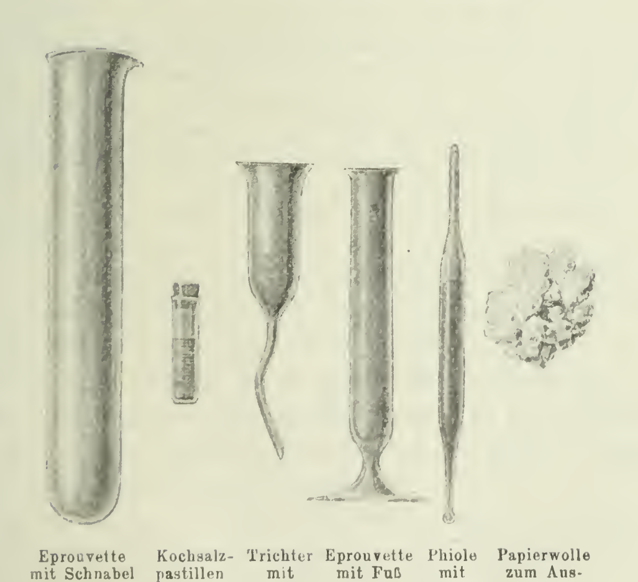


Fig. 18. Diagnostikum nach A. Ascoli.

Bei einem positiven Ausfalle bildet sich an der Berührungsfläche zwischen Milzbrandextrakt und präzipitierendem Milzbrandserum fast momentan ein weißlicher Ring, richtiger eine Scheibe, die während einiger Minuten an Intensität zunimmt.

Bei genauer Beobachtung der Reaktion bemerkt man, daß sich zuerst an der Berührungsfläche der beiden Medien eine leichte, dünnschichtige, homogene Trübung bildet, mit einem bläulichen Anflug, die sich rasch verstärkt; sie ist an der Grenzzone nach oben und unten hin scharf abgesetzt, als ob sie an der Berührungsfläche zwischen Serum und Extrakt hinge; nach und nach senkt sie sich in Gestalt grauweißer Flocken herab, die sich am Boden des Röhrchens absetzen. Diese Erscheinung macht sich bemerkbar, wenn das in Untersuchung stehende Material wirklich milzbrandig ist.

Bei den Kontrollproben mit präzipitierendem Serum und nicht milzbrandigem Extrakt oder mit Normalserum soll innerhalb einer Viertelstunde eine Trübung nicht auftreten. Die Berührungsfläche ist in diesem Falle leicht lichtbrechend und ist beim Schaukeln gut sichtbar.

Besonders beachtenswert sind die negativen Kontrollproben, auch jene mit physiologischer Kochsalzlösung, die an der Berührungsfläche der aufeinandergeschichteten Flüssigkeiten eine leichte Trübung erkennen lassen können, aber von der positiven Reaktion wohl zu unterscheiden sind.

Es handelt sich hier ebenfalls um eine fast momentan auftretende grauweiße Zone an der Grenze der beiden Medien; diese setzt sich jedoch nur nach oben einigermaßen scharf ab, verliert sich aber allmählich nach unten zu in der darunter befindlichen Flüssigkeit. Bei längerem Stehenlassen ist keine Intensitätszunahme bemerkbar.

Wer Gelegenheit hatte, eine derartige diffuse Trübung etliche Male zu beobachten, dem ist es ein leichtes, sie von der scharf abgegrenzten, charakteristischen spezifischen Reaktion zu unterscheiden.

Ein weiterer nicht gering zu schätzender Faktor liegt in der zeitlichen Beurteilung der Reaktion.

In der Regel stellen wir an eine deutlich positive Reaktion die Anforderung, daß die ringförmige Trübung sofort oder längstens nach 5 Minuten auftritt, während wir die Beobachtungsdauer nach 15 Minuten für abgeschlossen erklären und den nach diesem Zeitraum auftretenden Trübungen einen spezifischen Wert absprechen. Bei Reaktionen, die zwischen der 5. und 15. Minute erscheinen, müssen andere Erwägungen betreffend das Verhalten der Kontrollen, die Konzentration des Extraktes, dessen Bazillengehalt usw. mitberücksichtigt werden; es wäre eventuell die

Probe unter veränderter Versuchsanordnung zu wiederholen, worauf auch diese heikleren Fälle in der Regel eine befriedigende Lösung finden dürften.

Andere Anwendungen der Thermopräzipitation.

Die Thermopräzipitation ist im Verlaufe weniger Jahre zur Diagnose der verschiedensten Infektionen angewendet worden, indem der spezielle Fall des Milzbrandes als serodiagnostische Methode von allgemeiner Bedeutung verwendet wurde, da in der Tat die Hitzebeständigkeit eine Eigenschaft der bakteriellen Präzipitinogene insgesamt darstellt. Voraussetzung zur Anwendung der Probe ist jedoch im einzelnen Falle die Möglichkeit der Herstellung eines geeigneten präzipitierenden Serums.

In den wenigen Jahren seit der Entdeckung der Thermopräzipitation ist ihr bereits ein ansehnliches Arbeitsgebiet eröffnet worden; bei Schweinerotlauf, Rauschbrand, Paratyphus, Fleischvergiftungen, Rotz, Maltafieber, Dysenterie, Petechialfieber und Rinderpest erwies sie sich als wertvolles diagnostisches Hilfsmittel. Bei der Pest ist das Verfahren von Piras nicht nur als Organpräzipitation zur Diagnose an Rattenkadavern, sondern auch zur Aufsuchung des Präzipitinogens aus den Fäzes, wenn kein anderes Material zu beschaffen war, verwendet worden.

Bei der Herstellung der Extrakte erzielt man auch in diesem Falle die besten Resultate mit unserer Methode der Thermoextraktion, mit dem Unterschied, daß man als Lösungsmittel statt der physiologischen Kochsalzlösung destilliertes Wasser verwendet, weil die Anwendung von physiologischer Kochsalzlösung dem Extrakt ein höheres spezifisches Gewicht verleiht und dadurch die Schichtung des Extraktes mit verdünnten Seris, wie sie Piras zur Beurteilung des Grades der Reaktion verwendet, sehr erschwert wird.

Die Ablesung der Resultate geschieht dreimal: sofort, nach 5 Minuten und nach zweistündigem Verweilen im Thermostaten.

Beim Milzbrand wurde die Thermopräzipitation auf die Häute ausgedehnt, bei der Tuberkulose auf das Sputum und es zeigte sich, daß das Präzipitinogen nicht nur in den Organen, sondern in jedem Material nachzuweisen ist, das den Infektionskeim oder sein Protoplasma enthält.

Präzipitationsreaktion bei der Rinderpest.

Die Präzipitation wurde jüngst mit gutem Erfolge auch zur Diagnose der Rinderpest benützt; diese Diagnose bietet im allgemeinen nicht unerhebliche Schwierigkeiten, weil die Rinderpest mit dem malignen katarrhalischen Fieber in Gegenden, wo beide Krankheiten auftreten, verwechselt werden kann. Die

Präzipitationsmethode, die nur bei der Rinderpest positive Resultate gibt, ist besonders zur Unterscheidung dieser beiden Krankheiten sehr wertvoll.

Ruppert stellte in Deutschafrika ohne Schwierigkeiten das spezifische präzipitierende Serum von Rindern während der Immunisierung her. Als Präzipitinogen dient ein Organextrakt von an Pest verendeten oder zur Serumlieferung entbluteten Tieren und wird mittels der Chloroformmethode hergestellt. Mit dem auf 1 : 20 verdünnten Serum und dem Extrakt wird dann die Ringprobe ausgeführt, die nach längstens einer Minute ablesbar ist.

Die Thermopräzipitation ist somit eine Reaktion, die wirklich reiche praktische Ergebnisse gezeitigt hat, besonders bei der Diagnose des Milzbrandes und der Pest, und hat wegen ihrer Einfachheit zahlreiche experimentelle Untersuchungen in der Diagnostik der Infektionskrankheiten bei Menschen und Tieren veranlaßt. Und wir können von ihr noch so manchen Beitrag zur Lösung bis nun ungeklärter Probleme der Bakteriologie erwarten.

Es sind jedoch auch der Leistungsfähigkeit der Thermopräzipitation gewisse Schranken gesetzt, so daß sie nicht als Ersatz für die anderen Untersuchungsmethoden angesehen werden darf, sondern als ein diagnostisches Hilfsmittel gelten soll, welches allerdings in gewissen Fällen zur Sicherung der Diagnose hervorragende Dienste leistet. Eine mathematische Gewißheit von der Reaktion zu erwarten, hieße das Wesen der Präzipitine verkennen und mehr verlangen, als eine serodiagnostische Methode zu leisten vermag. Bei ihrem Charakter einer Gruppenreaktion hat man stets mit der Möglichkeit zu rechnen, daß verwandte Keime positiv reagieren können und daß umgekehrt bei allzu geringem Präzipitinogengehalte des Untersuchungsmaterials negative Resultate schwer zu vermeiden sind.

Dort, wo diese störenden Elemente in der Praxis vernachlässigt werden können und die Unzulänglichkeit der bakteriologischen Untersuchungen unbestreitbar ist, wie z. B. bei zersetztem milzbrandigen Material vom Rind, gibt die Thermopräzipitation Reaktionen, die der bakteriologischen Prüfung vollständig gleich stehen oder sogar noch verläßlicher sind. Wo hingegen, wie beim Schweinerotlauf, der Kulturversuch wegen der Resistenz des

Krankheitserregers gegen Fäulnis bessere Garantien gibt, kann die Thermopräzipitation, die hier als Gruppenreaktion sich auch auf die verwandten Keime erstreckt, in der Praxis mit der bakteriologischen Untersuchung nicht in Wettbewerb treten.

Die präzipitierenden Eigenschaften der antibakteriellen Sera bilden also, mit Überlegung angewendet und vorsichtig beurteilt, ein einfacheres und zugänglicheres Hilfsmittel als ihr Agglutinationsvermögen, das man nur an isolierten Keimen verwerten kann.

Serodiagnose mittels der Präzipitine

Aber nicht nur in den Seris künstlich immunisierter Tiere sind spezifische Präzipitine enthalten, sondern auch in den Krankenseris findet man präzipitierende Substanzen, die in ganz ähnlicher Weise wie die Widalsche Probe zur Diagnose benützt werden können. Die Serodiagnostik mittels der Präzipitinreaktion verlangt meistens größere Sorgfalt als die Seroagglutination; die untersuchte Flüssigkeit muß absolut klar und das Auge genügend geübt sein, um den charakteristischen Ring und die Niederschlagsbildung zu entdecken, während das Agglutinationsphänomen leichter auch bei geringer Übung erkannt wird.

bei Rotz.

Bei Rotz z. B. bildet die Ringprobe zwischen dem Rotzserum und einer 25%igen Lösung von trockenem Mallein, einigen Forschern zufolge, ein diagnostisches Hilfsmittel, indem nach zweistündigem Verweilen der Proben im Thermostaten an der Berührungsfläche die Ringbildung eintritt; da man aber die Ablesung des positiven Resultats beim Serum rotzkranker Pferde, wie erwähnt, innerhalb von 15 Minuten vornehmen muß, weil später auch bei normalen Seris Spontantrübungen vorkommen, verringert dieser Umstand den praktischen Wert der Reaktion, ja hebt ihn vielleicht geradezu auf. Dagegen hat Finzi gute Resultate mit der Ringprobe bei Auswertung des Malleins erzielt.

bei Tuberkulose.

Die Hoffnung, in der Präzipitation ein Mittel zur Unterscheidung der menschlichen von der Rindertuberkulose zu finden, war zu hoch gespannt, um von Erfolg gekrönt zu werden. Indessen sind die spezifischen Präzipitine bei der Tuberkulose auf Grund neuerer Forschungen wieder zu Ehren gekommen, indem das präzipitierende Vermögen des Serums tuberkulöser Rinder und besonders das gesteigerte des Serums hypervakzinierter Pferde wieder untersucht wurde und diagnostische Bedeutung

erhielt, so daß es nicht ausgeschlossen erscheint, aus der Präzipitation des verdächtigen Serums Nutzen zu ziehen, sowohl bei der Verwendung als Antigen mit Immunserum, wie auch als Antikörper bei Vorhandensein von tuberkulösen Filtraten.

bei Nierentuberkulose.

Auch in der speziellen Diagnostik der Nierentuberkulose wurde die Thermopräzipitinreaktion mit recht gutem Erfolge angewendet. Beim Auftreten von Schleim, Eiter und Blut im Harn kann sie neben dem langwierigen und nicht immer verläßlichen Tuberkelbazillennachweis ein wenig zeitraubendes und vorzügliches diagnostisches Hilfsmittel werden; einer ausführlichen Arbeit von Vigèt zufolge fällt sie parallel mit der klinischen Diagnose positiv aus. Bei der Ausführung läßt man den Harn sedimentieren, entfernt dann den größten Teil des Harnes, so daß im Reagensrohr Harn und Sediment zu gleichen Teilen verbleiben. Dann kocht man 2—3 Minuten und läßt erkalten, filtriert durch doppeltes oder besser dreifaches gewöhnliches Papierfilter, bis das Filtrat klar und durchsichtig ist, hierauf verfährt man weiter wie beim Milzbrand (siehe Seite 140).

bei Syphilis.

Im allgemeinen ist als „Infektionsreaktion“ mit dem Serum von Patienten, die an bazillären Infektionskrankheiten leiden, die Seroagglutination mit den Bakterienaufschwemmungen der sogenannten Diagnostika der Präzipitationsprobe überlegen.

Die Präzipitationsreaktion ist jedoch bei solchen Krankheitsformen allein verwertbar, bei denen die Seroagglutination nicht durchführbar ist. So bei der Syphilis: die Spirochaete pallida ist zwar zweifellos ihr Erreger und konnte von Noguchi und anderen Forschern auch in Reinkultur gewonnen werden, doch ist die Technik der Züchtung noch zu schwierig, um allgemein zugänglich zu sein; man kann also vorläufig nur schwer zur Agglutinationsprobe geeignete Emulsionen herstellen. Andererseits aber haben diesbezügliche Untersuchungen ergeben, daß das Serum Syphilitischer mit Lösungen von Lezithin oder glykocholsaurem Natron eine für klinische Zwecke genügend spezifische Reaktion gibt. Ob diese Reaktion auf jener Wechselwirkung von Antigen und Antikörper beruht, die die Grundlage der serodiagnostischen Methoden bildet, ist zwar zu bezweifeln, weil die Einführung von Lezithin und Glykocholat nicht zur Bildung von syphilitischen Antikörpern führt. Immerhin tritt die Ausflockung des Lezithins, respektive des glykocholsauren Natrons nicht bloß mit dem Serum syphilitischer

Individuen ein, sondern auch mit dem Serum von Kaninchen, auf die menschliche Syphilis experimentell übertragen wurde, bleibt hingegen aus, wenn man Serum von gesunden Menschen oder Kaninchen verwendet.

Sachs-Georgische Reaktion.

Auch bei dem Kontakt von luetischem Serum mit einem Extrakt aus cholesterinisiertem Rinderherz tritt nach einiger Zeit eine für Syphilis spezifische Reaktion auf. Diese Reaktion heißt „Sachs-Georgische Reaktion" und ist eine zweckmäßige Kontrolle der Wassermannschen, die sie in Fällen, wo nur eine sehr geringe Menge Blutes für die Untersuchung verfügbar ist, wie das immer in der Kinderheilkunde der Fall ist, ersetzen kann.

Sachs-Georgische Reaktion Theorie.

Diese Reaktion, die bereits in zahlreichen Fällen mit gutem Erfolg nachkontrolliert worden ist, basiert auf den alten Versuchen von Klausner und Bruck, Porges und Meier, Hermann und Perutz, die Präzipitinmethode bei der Diagnose der Syphilis anzuwenden.

Sachs und Georgi nahmen an, daß das Phänomen der Komplementbindungsreaktion ein Vorgang unsichtbarer Präzipitation sei und verwendeten mit gutem Resultat den von Sachs schon im Jahre 1911 benützten Ersatz für das Antigen bei der Wassermannschen Reaktion, um den Präzipitationsprozeß womöglich direkt wahrnehmbar zu machen und zugleich die Reaktion zu vereinfachen.

Die wichtigste Rolle spielt bei dem Vorgang der Zusatz von Cholesterin; diesem kommt die Funktion zu, das Präzipitationsvermögen der alkoholischen Extrakte zu steigern, so daß eine erhöhte Sensibilität eintritt, die ausreicht, um die Globulinveränderungen deutlicher und die Affinität zwischen Globulinen und Lipoiden stärker hervortretend zu machen.

In diesem Cholesterinzusatz liegt eben der Unterschied von der Wassermannschen Reaktion, bei der die nur in schwachem Grad vorhandene Präzipitation der Globuline in statu nascendi durch das aktive Meerschweinchenserum gehemmt wird.

Die bisherigen Erfahrungen in Bezug auf die Spezifität der Reaktion haben gezeigt, daß auch charakteristische Reaktionen bei Infektionskrankheiten oder fieberhaften Zuständen auftreten können, wie das ja auch bei der Wassermannschen Reaktion, wenn die Extrakte nicht genügend geprüft wurden, der Fall sein kann; läßt man aber die Versuchsröhrchen 20 Stunden

im Brutschrank und verwendet nur geeignete Extrakte, so werden diese Zufälle auf ein Minimum reduziert.

Das Wichtigste bei der Reaktion ist die Herstellung und Prüfung geeigneter Extrakte.

Methode.

Den rohen Extrakt erhält man aus einem Gewichtsteil feuchter Organsubstanz (feingeschnittene, mit Sand verriebene, von Fett befreite Rinder-, Menschen- oder Meerschweinchenherzen) und 5 Teilen Alkohol. Der Extrakt wird 4—5 Stunden mit Glasperlen im Schüttelapparat geschüttelt und dann durch Papierfilter filtriert. Nach zweitägigem Stehen im Eisschrank wird der Extrakt nochmals filtriert, dann verdünnt man ihn in verschiedenen Graden mit Alkohol, so z. B. mit gleichen, mit zwei Teilen usw. 10 cm^3 des auf diese Weise verdünnten Extraktes werden dann mit verschiedenen Mengen einer 1%igen Cholesterinlösung (z. B. 0·3, 0·4, 0·5, 0·6 cm^3 usw.) versetzt, um die am besten geeignete Cholesterinmenge zu bestimmen.

Sachs und Georgi haben einen Zusatz von 0·45—0·6 cm^3 der 1%igen Cholesterinlösung zu 10 cm^3 des auf das Dreifache verdünnten Rohextrakts als geeignet befunden.

Wichtig ist auch die weitere Verdünnung des so erhaltenen Extraktes: 1 Teil Extrakt wird mit 5 Teilen physiologischer Kochsalzlösung derart versetzt, daß zuerst der eine Teil des Extraktes rasch mit einem Teil physiologischer Kochsalzlösung (zu 0·85%) gemischt, die übrigen vier Teile hingegen erst 5—10 Minuten später hinzugefügt werden.

Noch empfindlicher werden die Extrakte, wenn man die physiologische Kochsalzlösung unter fortwährendem Schwenken langsam zusetzt.

Technik.

Die Ausführung der Sachs-Georgischen Reaktion ist viel einfacher als die der Wassermannschen, weil die Reagentien der letzteren — Komplement, hämolytisches System — wegfallen.

1 cm^3 Krankenserum, $^1/_2$ Stunde bei 55—56° inaktiviert und mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt, wird mit 0·5 cm^3 des sechsfach verdünnten Extraktes versetzt (Hauptversuch). In gleicher Weise macht man zwei Kontrollversuche mit sicher syphilitischem und nicht syphilitischem Serum.

Außerdem macht man eine Extraktkontrolle, indem man 0·5 cm^3 der 6fachen Extraktverdünnung mit 1 cm^3 0·85%iger Kochsalzlösung mischt. Weiters macht man noch eine Serumkontrolle, indem man 1 cm^3 der 10fachen Serumverdünnung mit 0·5 cm^3 6fach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Alkohols mischt.

Die Versuchsröhrchen bleiben entweder 2 Stunden oder 18—20 Stunden im Brutschrank, wobei zu bemerken ist, daß auch im zweiten Fall die Reaktion für Syphilis charakteristisch, wenn auch weniger empfindlich ist.

Agglutinoskop.

Sachs und Georgi verwendeten zur Beurteilung des Resultats mit Vorteil das Agglutinoskop von Kuhn und

Woithe; dieses wurde zur genaueren Beobachtung agglutinierter Bakterien konstruiert und kann daher sehr gut zur Bewertung der Körner und Flocken herangezogen werden.

1. Eine Trübung oder ein nicht homogenes Gemisch deutet auf eine zweifelhafte Reaktion (±).

2. Das Auftreten heller Körnchen oder Flocken auf dunklem Grunde spricht für eine positive Reaktion, die je nach der Intensität des Phänomens sehr stark (+++), stark (++) oder schwach (+) positiv sein kann.

Bei negativem Befund bleiben die Kontrollröhrchen hell und klar, höchstens tritt eine leichte Opaleszenz auf; sollten aber die Kontrollen auch ausflocken, so ist die Reaktion zu wiederholen.

Lumbalflüssigkeit wird nach den angegebenen Vorschriften unverdünnt in den Mengen von 1 cm^3 bis 0·5 cm^3 verwendet.

Reaktion von Meinicke.

Eine der Sachs-Georgischen ähnliche Ausflockungsreaktion ist die von Meinicke, die auf folgender theoretischer Grundlage aufgebaut wurde, daß nämlich Extraktkolloide das Kochsalzgewicht der Serumglobuline im Sinne einer Kochsalzentziehung stören und daß diese Reaktion bei den positiven Seren intensiver als bei den negativen verläuft. Darauf beruhen die drei Formen der Meinickeschen Reaktion: die Wassermethode, die zweizeitige Kochsalzmethode und die einzeitige dritte Modifikation. Die letztgenannte „D. M.“ der Meinickeschen Reaktion stellt eine Verbesserung und eine Vereinfachung der anderen zwei Methoden dar.

Als Organextrakte verwendet man bei dieser „dritten Modifikation“ Pferdeherzen, die, trocken zu einem feinen Pulver zerrieben, mit neun Volumteilen Aether pur. geschüttelt und durch doppelte Papierfilter filtriert werden; der Filterrückstand wird bei 37° getrocknet. Zu diesem Pulver fügt man 9 Volumteile 96%igen Alkohol hinzu und filtriert durch doppelte Papierfilter. Zur Ermittlung der geeigneten Konzentration mischt man fallende (1—0·5—0·25—usw.) Mengen Extrakt mit steigenden Mengen Alkohol. Zu je 0·5 cm^3 dieser Verdünnungen gibt man 0·5 cm^3 salzfreies destilliertes Wasser, mischt gut durch und läßt eine Stunde stehen; in dieser Zeit werden die Extrakte mehr oder weniger trübe. Dann gibt man zu jedem Röhrchen noch 3·5 cm^3 destilliertes Wasser und mischt wieder. Die richtige Konzentration des Extraktes zeigt sich in einer sofortigen starken Trübung, die sich beim zweiten Wasserzusatz leicht aufhellt, aber noch deutlich bleibt. Zu 1 Volumteil dieses gebrauchsfertigen Extraktes gibt man die halbe Menge destilliertes Wasser, läßt eine Stunde stehen und verdünnt dann schnell mit der siebenfachen Menge 2%iger Kochsalzlösung; diese Extraktverdünnung muß frisch verbraucht werden. Zu je 0·2 cm^3 der 1/4 Stunde bei 55—56° inaktivierten Sera gibt man 0·8 cm^3 der Extraktverdünnung, mischt gut durch und läßt die Röhrchen bis zum anderen Tage bei 37° im Brutschrank stehen. Die positiven Sera sind dann mehr oder weniger ausgeflockt, die negativen nicht. Das

Ergebnis wird mit bloßem Auge oder mit der Lupe abgelesen. Diese „dritte Modifikation“ geht in weitem Maße mit der Wassermannschen Reaktion parallel. Abweichungen werden in etwa 5—10% der Fälle beobachtet.

Man trifft jedoch nicht nur bei ansteckenden Krankheiten spezifische Präzipitine im Serum. Vielmehr bilden sie sich auch bei anderen Krankheitsformen, wenn heterogene artfremde protoplasmatische Substanzen in den Organismus eindringen.

bei der Echinokokkose.

So verursacht die Gegenwart der Zystenflüssigkeit bei der Echinokokkose im kranken Organismus infolge des Übertrittes ihrer Bestandteile in den Kreislauf einen Abwehrprozeß, der von dem Auftreten antagonistischer Substanzen im Serum begleitet ist. Unter diesen befindet sich ein Präzipitin, das in der Zystenflüssigkeit eine Niederschlagsbildung, respektive eine Trübung an der Stelle hervorruft, wo sich Patientenserum und Zystenflüssigkeit berühren. Dieses Präzipitationsvermögen, das man manchmal im Serum von Individuen vorfindet, die mit Echinokokkusblasen behaftet sind, gibt also dem Chirurgen mitunter ein harmloses Mittel in die Hand, um die Diagnose zu sichern, wenn der verborgene Sitz der Zyste sie nicht mit Gewißheit zu stellen erlaubt, oder um sie zu bestätigen, wenn schon die gewöhnlichen Untersuchungsmethoden eine Echinokokkose annehmen lassen.

Angewandte biologische Reaktionen.

Ich habe Ihnen somit die diagnostischen Hilfsmittel, die diese Gerinnungsvorgänge der Agglutination und Präzipitation dem Kliniker und dem Hygieniker bei infektiösen und parasitären Erkrankungen in die Hand gegeben haben, in Kürze vorgeführt. Die Anwendungen, die die Präzipitine in Fragen der Biologie und gerichtlichen Medizin fanden, sind gewiß ebenso zahlreich und bedeutungsvoll. Ich habe Ihnen schon angedeutet, daß das Erscheinen der Präzipitine im Serum ein Phänomen ist, das, allgemein gesprochen, überall dort auftreten kann, wo heterogenes Protoplasma mit Umgehung des Verdauungstraktes in den Organismus eindringt. Man kann also präzipitierende Sera mittels einer ganzen Reihe von Antigenen herstellen: durch Injektion von Blut, Serum, Milch, Fleisch und den verschiedensten Proteinen.

Spezifität.

Die so gewonnenen Präzipitine sind genau auf das zu ihrer Herstellung verwendete Antigen abgestimmt. Es sind spezifisch eingestellte Seitenketten oder Rezeptoren, die von den Zellen

neugebildet und in den Kreislauf abgestoßen worden sind; sie sind mit einer haptophoren Gruppe versehen, die dazu dient, das Antigen zu binden, und mit einer zymophoren Gruppe, die die Bildung des charakteristischen Präzipitates hervorruft. (Siehe Fig. 1.) Diese präzipitierenden Rezeptoren üben eine maximale präzipitierende Wirkung auf die ihr Antigen enthaltenden Lösungen aus. Die protoplasmatischen Substanzen, die zur Herstellung der präzipitierenden Sera dienen, sind jedoch in Wirklichkeit ein äußerst verwickelter Komplex von verschiedenen Molekülen, von denen einige sich in den verschiedensten Antigenlösungen vorfinden. Die neugebildeten Rezeptoren, die als Präzipitine zirkulieren, sind auf alle diese antigenen Moleküle abgestimmt und daher werden sich unter ihnen immer auch solche finden, die auf die den verschiedenen Protoplasmaarten gemeinsamen Moleküle reagieren. Die Spezifität der präzipitierenden Sera ist daher keine absolute.

Abgestufte Reaktion.

Die Präzipitine verursachen eine maximale, sehr reichliche Niederschlagsbildung in den Flüssigkeiten, die zur Vorbehandlung des serumliefernden Tieres verwendet wurden, weil ihre Rezeptoren mit der Gesamtheit der verschiedenen eingeführten Moleküle reagieren. Aber auch in den Lösungen, die von verwandtem Protoplasma herrühren, verursachen die präzipitierenden Sera das Auftreten eines Niederschlages, weil die Präzipitinrezeptoren, die infolge des Eindringens der den verschiedenen Protoplasmaarten gemeinsamen Moleküle neugebildet wurden und ins Serum übergingen, mit eben diesen Molekülen reagieren und einen Niederschlag bilden; dieser wird um so geringer sein, je kleiner die Anzahl der gemeinschaftlichen Moleküle, d. h. je kleiner die Affinität der Antigene ist, um so reichlicher hingegen, je größer die Zahl der gemeinschaftlichen Moleküle, d. h. je größer die Affinität ist.

Artspezifität

So entwickelt z. B. ein Serum, das auf die protoplasmatischen Substanzen des Menschen eingestellt ist, eine maximale präzipitierende Wirkung auf die Eiweißkörper, die Körpersäfte, das Serum und das Blut vom Menschen, weil das präzipitierende Serum alle die verschiedenen Typen von Rezeptoren enthalten wird, welche den zur Gewinnung des präzipitierenden Serums eingeführten Molekülen entsprechen. In den Säften und Flüssigkeiten, die von anthropomorphen Affen stammen, ist die Niederschlagsbildung fast ebenso reichlich und liefert damit den Beweis

der nahen Verwandtschaft zwischen den beiden Spezies; der molekulare Aufbau des Protoplasmas weist offenbar beim Menschen und beim anthropomorphen Affen mehr als eine Analogie, eine Übereinstimmung auf, die mit der Darwinschen Theorie in vollem Einklang steht. Weniger reichlich ist der Niederschlag, den man mit einem solchen Antiserum bei Material von niederen Affen erhält und er wird bei den anderen Säugetieren, bei Pferd und Rind, immer geringer; man erhält ihn überhaupt nur mit sehr hochwertigen präzipitierenden Seris bei Material von Meerschweinchen, Kaninchen oder Hunden. Der Grad der Protoplasmaaffinität, den die Präzipitinreaktion anzeigt, entspricht ziemlich genau der auf anderer Grundlage ausgearbeiteten Einteilung der Tierreihe.

Auch für die botanische Systematik dürfte der Präzipitation eine ähnliche Bedeutung zukommen, da sie nach neueren Untersuchungen berufen erscheint, auf die verwandtschaftlichen Beziehungen der verschiedenen Pflanzen ein Licht zu werfen. Die durch Vorbehandlung mit Samen gewonnenen präzipitierenden Sera geben nämlich wertvolle Aufschlüsse für die Stammgeschichte der Pflanzen, indem z. B. ein Immunserum, das mit einer schmetterlingsblütigen Pflanze, der Linse, hergestellt ist, nicht bloß mit allen anderen schmetterlingsblütigen Pflanzen, sondern auch mit artfremden verwandten Rosen und Hahnenfußarten, dagegen mit keiner einzigen Pflanze aus fernerstehenden Familien zu reagieren vermag.

Diese Erörterungen werden auch zum Verständnis des Begriffes der Spezifität beitragen, das zu einer richtigen theoretischen Einschätzung der experimentellen Resultate der Immunitätsforschung unerläßlich ist.

Gerichtlich-medizinische Gutachten.

Es erscheint uns des weiteren begreiflich, warum bei jeder Untersuchung, die die Präzipitations- oder Agglutinationsphänomene zu diagnostischen Zwecken ausnützen will, mit besonderen Kautelen vorgegangen werden muß. Nur durch größte Behutsamkeit werden in der Klinik diagnostische Fehler zu vermeiden sein, wo doch auch andere diagnostische Behelfe zur Verfügung stehen. In noch weit höherem Maße wird ein vorsichtiges und gewissenhaftes Vorgehen in der gerichtlich-medizinischen Begutachtung geboten sein, wo oft von dem Ausspruch des Sachverständigen Verurteilung oder Freispruch, Leben oder Tod abhängen kann.

Die Frage der forensischen Diagnose mittels der präzipitierenden Sera ist von Uhlenhuth meisterhaft gelöst worden, der in mathematisch genauer Weise die Forderungen aufgestellt hat, denen ein Gutachten genügen muß, um nicht in Irrtümer zu verfallen, die unter allen Umständen zu vermeiden sind.

Uhlenhuthsche Methode.

Er hat für die gerichtlich-medizinischen Untersuchungen, die darauf ausgehen, mittels der Differenzierung durch präzipitierende Sera die Abstammung eines Blutfleckes, einer Fleischprobe oder eines heterogenen Eiweißkörpers überhaupt zu erkennen, derartige Kautelen und so viele Kontrollversuche eingeführt, daß seine Methode uns gestattet, die dem Sachverständigen vorgelegten Fragen in vollständig zufriedenstellender Weise und mit vollster Gewissensruhe zu beantworten.

Ein praktisches Beispiel soll Ihnen veranschaulichen, mit welcher Genauigkeit und Verläßlichkeit die in der gerichtlichen Medizin so häufige Frage, ob ein Blutfleck vom Menschen stammt, nach dieser Methode beantwortet werden kann. Um seine Aufgabe zu erfüllen, muß der Sachverständige über ein hochwertiges Antiserum gegen menschliches Eiweiß verfügen, das er sich selber herstellen kann, indem er irgendein Laboratoriumstier, am besten ein Kaninchen, mit menschlichem Eiweiß immunisiert, oder das er fertig aus einem Institut bezieht.

Biologische Differenzierung eines Menschenblutfleckes

Das spezifische Antiserum muß folgende Eigenschaften aufweisen: 1. muß es ganz klar sein oder durch Filtrieren oder Zentrifugieren vollständig geklärt werden; 2. muß es imstande sein, in von Menschen stammenden Blut- oder Eiweißlösungen, welche auf 1:1000 und darüber verdünnt sind, binnen wenigen Minuten eine Niederschlagsbildung hervorzurufen.

Eigenschaften des präzipitierenden Serums.

Auch der Extrakt aus dem Blutfleck muß unter ebenso großen Kautelen in demselben Verhältnis verdünnt werden. Das kann man nicht direkt erzielen, wie beim Blut, das man zur Kontrolle der Wirksamkeit des präzipitierenden Serums verwendet, weil man nicht weiß, wieviel Blut, resp. wieviel Eiweiß in dem Lappen und in dem zu untersuchenden Fleck enthalten ist. Man muß also das Material mehrere Stunden in wenig physiologischer Kochsalzlösung liegen lassen, bis die Eiweißprobe (mittels Aufkochen und Zusatz von Salpetersäure) im Extrakt positiv ausfällt.

Auflösung des Fleckes.

Dieser Extrakt wird dann mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, bis die Kochprobe mit Salpetersäurezusatz

Verdünnung des Extraktes.

nur mehr eine deutliche Opaleszenz, aber keine flockige Niederschlagsbildung der Flüssigkeit verursacht oder bis die Hellersche Probe (Schichtung der Salpetersäure unter den Extrakt) nur mehr eine schwache Ringbildung zeigt. Die so hergestellte Verdünnung des Extraktes ist derart, daß darin bloß die charakteristischen Moleküle der Tierspezies, von der das Blut stammt (in unserem Fall des Menschen), in solcher Anzahl enthalten sind, daß eine Niederschlagsbildung durch das spezifische präzipitierende Antiserum stattfinden kann.

Hauptversuch.

Durch den Zusatz des Serums wird also, sofern der Fleck von Menschenblut herrührte, in dem so vorbereiteten Extrakt, der ebenfalls vollkommen klar sein muß, eine prompte Niederschlagsbildung auftreten, und zwar innerhalb weniger Minuten.

Kontrollversuche.

Die Kontrollversuche, die man nicht unterlassen soll, bestehen darin, daß in vollständig analoger Weise wenigstens eine Probe von Menschenblut und eine von Tierblut (Rind, Schwein, Kaninchen) untersucht wird; diese soll der Sachverständige stets bereit halten, indem er Lappen mit solchem Blut tränkt und sie dann an der Luft trocknen läßt. An diesen Kontrollversuchen kann er sich von der Richtigkeit seiner Resultate überzeugen; er wird unter den angegebenen Bedingungen, sofern alles regelmäßig verläuft, bei dem Extrakt, der bestimmt von Menschenblut stammt, eine Niederschlagsbildung erhalten, während der Extrakt, der bestimmt vom Rind oder einem anderen Tier stammt, klar bleibt; denn in diesem Falle sind die Moleküle, die das Rind oder eine andere Tierspezies mit dem Menschen gemeinsam hat, in solchem Grade verdünnt, daß eine Niederschlagsbildung durch die entsprechenden, im Antiserum gegen Menschenblut enthaltenen Rezeptoren nicht mehr eintreten kann.

Technik des Versuches nach Uhlenhuth.

Der Versuch gestaltet sich folgendermaßen: Eine Reihe von 5 Reagensröhrchen wird beschickt:

1. Hauptreaktion = 2 cm^3 der fraglichen verdünnten Blutlösung + 0·1 cm^3 präzipitierendes Serum,
2. Kontrolle = 2 cm^3 Kochsalzlösung + 0·1 cm^3 präzipitierendes Serum,
3. Kontrolle = 2 cm^3 der verdünnten Blutlösung jener Tiergattung, die man in der zu untersuchenden Blutprobe nachweisen will + 0·1 cm^3 präzipitierendes Serum,
4. Kontrolle = 2 cm^3 der fraglichen verdünnten Blutlösung allein,
5. Kontrolle = 2 cm^3 verdünnter Blutlösung einer anderen Tiergattung + 0·1 cm^3 präzipitierendes Serum.

Wenn die Hauptreaktion und Kontrolle 3 positiv ausfallen, alle anderen Proben dagegen negativ, so ist die Anwesenheit der betreffenden

Blut- bzw. Eiweißart in der fraglichen Probe erwiesen. (In unserem Falle, des Menschen.) Ist das Ergebnis in allen Röhrchen negativ, so muß mit Hilfe anderer Antisera in analoger Weise ermittelt werden, welcher Tierspezies die Blutprobe angehört.

Auch hier muß der positive Ausfall sich dadurch zu erkennen geben, daß spätestens 1—2 Minuten nach Zusatz des Antiserums das Auftreten der Reaktion als hauchartige Trübung am Boden des Röhrchens sichtbar wird, die sich innerhalb der ersten 5 Minuten (bei Zimmertemperatur) in eine dicke wolkige Trübung verwandelt, um in den nächsten 10 Minuten einen deutlichen Bodensatz zu bilden. Später als nach 20 Minnten auftretende Trübungen sind nicht mehr zu berücksichtigen. Stehen nur sehr geringe Mengen der fraglichen Substanz zur Verfügung, so kann man die Reaktion auch in sehr feinen, sauberen Kapillaren vornehmen. Man saugt ein Tröpfchen der zu prüfenden Blutlösung auf und unterschichtet mit einer winzigen Menge des spezifischen Serums, soviel eben in dem Röhrchen durch Kapillarität noch aufzusteigen vermag. An der Berührungsfläche der beiden Flüssigkeiten bildet sich dann ein deutlicher grauweißer Ring, wie wir es auf Seite 142 besprochen haben. Übrigens hat die Ringprobe gegenüber der Ausflockungsreaktion auch beim Uhlenhuthschen Verfahren solche Vorteile aufzuweisen, daß sie auch hier vorzuziehen ist; man hält sich dabei wohl an das angegebene Schema, modifiziert aber die Technik, indem man die Mischung durch die Schichtung des präzipitierenden Serums unter die verschiedenen Lösungen zu gleichen Teilen vornimmt, wie das bei der Thermopräzipitation ausgeführt wurde.

Verfahren bei anderem Material.

Das Verfahren zur Untersuchung von Blutflecken jeder Herkunft ist demnach stets dasselbe, nur ist das Antiserum gegen Menschenblut durch die jeweilig erforderlichen (dem Falle entsprechenden) präzipitierenden Sera zu ersetzen. Man muß jedoch betonen, daß die Methode von Uhlenhuth nicht ein Mittel ist, um das Menschenblut, insoweit es Blut ist, zu erkennen, sondern nur dazu dient, um menschliches Eiweiß überhaupt von artfremdem Eiweiß zu unterscheiden. Sie gestattet demnach klare und präzise Schlüsse auf die Spezies des Proteins, das in der untersuchten Probe enthalten ist, ob es vom Menschen oder von einem Tier stammt, aber sie setzt uns nicht in den Stand, die verschiedenen Eiweißkörper einer und derselben Spezies voneinander zu unterscheiden.

Die Lösung der Frage, ob das zu untersuchende Material aus Blut, Sperma oder anderen Körpersäften, resp. Geweben besteht, ist hingegen eine Aufgabe, die den spektroskopischen Untersuchungen und den gewöhnlichen chemischen Reaktionen zusteht.

Das Verfahren, das zur Unterscheidung der Fleischsorten der verschiedenen Tierspezies angewendet wird und zuweilen notwendig ist, um z. B. herauszufinden, ob eine Wurst aus Pferdefleisch besteht, ist dem eben geschilderten in seiner technischen Ausführung, seinen Voraussetzungen und seinen Schlüssen vollständig analog. Auch zur Unterscheidung der Mehlsorten besserer Qualität von den minderwertigen Produkten greift man zuweilen zur Präzipitationsmethode.

Technische Schulung.

Die Spezifität der präzipitierenden Sera verlangt also wegen ihres nicht absoluten, sondern nur relativen Wertes eine große Genauigkeit und gewissenhafte Beobachtung; nur eine peinlich exakte technische Schulung, die keinen der notwendigen Kontrollversuche unterläßt, um jeden möglichen Anlaß zu Irrtümern zu vermeiden, wird der Uhlenhuthschen Reaktion klare, genaue und unwiderlegbare Resultate sichern, wie sie von einer juristischen Aufgabe verlangt werden.

Natürlich erstrecken sich die Möglichkeiten dieser biologischen Untersuchungsmethode nur auf die Bestimmung der Art und man kann nur mittels besonderer Kunstgriffe verwandte Arten unterscheiden; hier muß man zur gekreuzten Immunisierung greifen mit der man präzipitierende Sera für die Proteine verwandter Arten, aber keine Autopräzipitine erhält. So kann man vom Kaninchen und von anthropoiden Affen Präzipitine für Hasen, resp. Menschen bekommen, die für Hasen, resp. Menschen spezifisch wirken, aber für Kaninchenblut und Blut anthropomorpher Affen inaktiv sind. Es werden hier schwankende Unterschiede in dem protoplasmatischen Bau aufgezeigt, die mit dem klassischen Verfahren nicht nachweisbar sind. In einigen Fällen aber, z. B. bei der Unterscheidung von Esel- und Pferdeblut, führt auch dieser Weg nicht weiter, weil die Struktur des Protoplasmas bei Arten, die so nahe verwandt sind, daß sie sogar eine Kreuzung zulassen, im Wesen gleich sein muß.

Laktosera.

Auch bei den sonstigen Untersuchungen, die mehr zu Studienzwecken angestellt wurden, hat die biologische Eiweißdifferenzierungsmethode interessante Ergebnisse zutage gefördert. So wurden z. B. die Antisera für verschiedene Fleischsorten herangezogen, um die Passage der heterogenen, durch den Magen eingeführten Proteine durch den Organismus zu verfolgen. Die Präzipitine der Antisera für Milch (Laktosera) haben dank ihrer

Spezifität dazu gedient, eine besonders starke Durchlässigkeit der Darmschleimhaut des Säuglings für die heterogenen Kaseine, die ihm bei der künstlichen Ernährung geboten werden, nachzuweisen; hiemit konnte die Überlegenheit der Muttermilch als Nahrungsmittel zum Teil auf die größere Affinität der in ihr enthaltenen Kaseine zurückgeführt werden.

Funktionsspezifität.

Angesichts der theoretischen und praktischen Erfolge, welche das Studium der Artspezifität mit Hilfe der Präzipitation gezeitigt hatte, lag es nahe, neben der Artspezifität auch nach einer Zell- oder Organspezifität zu fahnden, zumal durch die von Obermeyer und Pick ausgeführten Untersuchungen an jodierten Eiweißkörpern die Bedeutung der Struktur der Eiweißkörper für die Spezifität demonstriert worden war.

In der Tat konnte man ahnen und in einigen Fällen sogar mit wissenschaftlicher Genauigkeit feststellen, daß diejenigen Zellen oder Organe, denen in dem ganzen Tierreiche eine bestimmte gleiche Funktion zukommt, wie z. B. den Geschlechtsdrüsen oder der Kristallinse, neben den arteigenen Eigenschaften auch protoplasmatische Affinitäten aufweisen, die mittels der Präzipitationsmethode nachweisbar sind und ihre Gruppierung nach Organen oder besser nach der Funktion möglich machen. Von diesem Gesichtspunkt aus reagiert besonders das Linseneiweiß der Säugetiere beim Präzipitationsversuch ganz typisch; es gibt mit dem präzipitierenden Serum gegen Linseneiweiß deutlichere Resultate als mit dem präzipitierenden Serum der Tierart, zu der es gehört, so daß das wirklich spezifische Element nicht durch die Art gegeben erscheint, sondern durch das Organ oder vielmehr die Funktion. Es scheint hier der Gedanke naheliegend, daß einer bestimmten Funktion in der ganzen Tierreihe die gleichen Rezeptoren entsprechen könnten. Obwohl von dieser Annahme bis zu einer Zellenspezifität der Weg nicht weit ist, konnte doch aus den bisherigen Versuchen eine praktische Verwertung zur Diagnostik, speziell der Geschlechts- und Geschwulstzellen, nicht gewonnen werden.

Diagnose des Magenkrebses.

Man hat auch auf die Präzipitine die Absättigungsmethode angewendet, die, wie schon erwähnt, von Castellani zur Trennung der Koagglutinine oder Partialagglutinine eingeführt wurde, um die Lösung komplizierter diagnostischer Probleme zu versuchen. So wurde z. B. zur Frühdiagnose des Magenkrebses die Verwendung präzipitierender Sera empfohlen, die mit Magen-

saft aus dem karzinomatösen Magen hergestellt wurden; wenn man dem Serum mittels der elektiven Absorption die Rezeptoren entzog, die auf das menschliche Eiweiß von normalem menschlichem Magensaft abgestimmt sind, und das Präzipitat entfernte, so sollten die Rezeptoren, die spezifisch auf das Protein des Krebsgewebes abgestimmt sind, in der Flüssigkeit zurückbleiben und in dem Magensaft des Krebskranken ein neues Präzipitat hervorrufen.

Die Resultate dieser Untersuchungen besitzen jedoch keine genügende Beweiskraft, weil die schwankende Reaktion der Magensäfte eine unberechenbare Fehlerquelle bildet.

Bevor wir dieses für die Diagnostik so überaus interessante Kapitel verlassen, sei nochmals nachdrücklich darauf hingewiesen, daß bei allen diesen Koagulationsproben die Kontrollversuche in reichlichem Ausmaße durchgeführt werden müssen.

Die Präzipitine und ebenso die Agglutinine lassen keine absoluten, sondern nur relative diagnostische Schlüsse zu. Die Vergleichsmomente werden von den Kontrollversuchen geliefert, die im allgemeinen sowohl das Verhalten des entsprechenden Normalserums, als auch das anderer Antigene gegen die präzipitierende oder agglutinierende Fähigkeit der Sera, die bei dem Hauptversuch in Verwendung kamen, berücksichtigen müssen.

Siebentes Kapitel.

Hämolyse — Bakteriolyse.

Lyse (Hämo-, Zyto-, Bakteriolyse). — Substance sensibilisatrice oder Ambozeptor. — Komplement. — Hämolytische Sera. — Hypothermolysine bei der Hämoglobinurie. — Isohämolysine bei Bluttransfusionen. — Technik. — Auswertung des hämolytischen Systems. — Kobragifthämolyse. — Antihämolytische Reaktion. — Psychoreaktion. — Bakteriolyse. — Serumdiagnose der Cholera.

Lyse.

Die Gerinnungsvorgänge, die zwischen Antikörpern und Antigenen eintreten, sind Erscheinungen, die unseren Sinnen direkt, auch ohne Mikroskop zugänglich sind. Ebenso direkt makroskopisch oder mikroskopisch mittels Vergrößerung durch geeignete Linsen sind auch die Lösungserscheinungen wahrnehmbar, die infolge der Lyse (Bakteriolyse, Zytolyse, Hämolyse) antigener morphologischer Elemente auftreten, wenn diese mit geeigneten Antikörpern zusammengebracht werden.

Inaktivierung der lytischen Sera.

Die lysinhältigen Immunsera entfalten ihre auflösende Wirkung nur im frischen Zustand, d. h. wenn man sie sofort verwendet, sobald sie dem Organismus entnommen sind. Längeres Abliegen verändert zwar die antitoxische, agglutinierende oder präzipitierende Wirkung der Sera nur unbeträchtlich, hebt hingegen die lytische Wirkung in ganz kurzer Zeit, in Tagen oder höchstens Wochen auf; bei einer Temperatur von 56^0 findet diese Inaktivierung schon in einer halben Stunde statt.

Zwei Faktoren.

Die inaktivierten Sera gewinnen jedoch ihre frühere lytische Fähigkeit, die man beim frischen Immunserum antrifft, zurück, wenn man einfach wieder etwas frisches, wenn auch bloß normales Serum zusetzt. Die lytische Funktion wird also mit Hilfe zweier Faktoren ausgeübt, von denen der eine, der sich trotz Abliegen oder Erwärmen unverändert erhält, nur

im Immunserum enthalten ist, während der andere, äußerst labile, in jedem frischen Serum vorkommt. Die Zytolyse und die Bakteriolyse erfordern somit zu ihrem Zustandekommen ebenso wie die Proteolyse, die Glykolyse, die Lipolyse das Zusammenwirken zweier Elemente.

Feinerer Mechanismus der lytischen Prozesse.

Die Proteolyse, z. B. die Magenverdauung der Proteine ist ebenfalls das Resultat des Zusammenwirkens zweier Faktoren, der Salzsäure und des Pepsins, und auch bei diesem physiologischen Vorgang der Lyse zeichnet sich der eine Faktor, die Salzsäure, durch seine Thermostabilität und Resistenz aus, während der andere durch die Wärme leicht zerstört wird. Bei der Eiweißverdauung im Magen dient die Salzsäure dazu, das Eiweiß durch Quellung auf die zerstörende, lytische Wirkung des Pepsins vorzubereiten. In analoger Weise dient bei der Zytolyse das inaktivierte Immunserum dazu, die Zellen und Bakterien auf die Wirkung des in jedem frischen Serum enthaltenen Fermentes vorzubereiten oder als Beize zu sensibilisieren, wie Bordet sagt. Darum nannte Bordet den sensibilisierenden Antikörper Substance sensibilisatrice, während er die Fermentwirkung dem Buchnerschen Alexin zuschrieb, das ja auch außerordentlich labil ist.

Sensibilisierung.

Ambozeptor.

Nach der Ehrlichschen Theorie (Tafel II) geschieht die Vorbereitung der Zelle zur Lyse durch die freien Rezeptoren, die im Immunserum enthalten sind und zwei haptophore Gruppen besitzen: die zytophile, die auf einen Molekularkomplex der Zelle abgestimmt ist, und die komplementophile, die sich mit dem lytischen Ferment des frischen Serums verbindet. Der Rezeptor des Immunserums — das Lysin in der Sprache der Immunitätslehre — ist also nach Ehrlich ein Ambozeptor, der eine vermittelnde Rolle bei der Übertragung der lytischen Wirkung des frischen Serums spielt. Das im frischen Serum enthaltene lytische Ferment wurde von Ehrlich nicht mit dem Alexin identifiziert, sondern er gab demselben den Namen „Komplement“, denn es ist ein Komplement, das notwendig ist, um die vom lytischen Ambozeptor vorbereitete Lyse zu komplettieren.

Komplement.

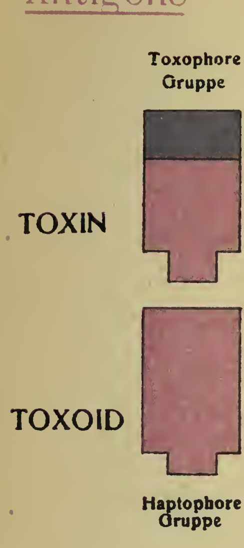
Drei Typen von Rezeptoren.

Die lytischen Ambozeptoren unterscheiden sich sowohl von den toxischen wie von den agglutinierenden und präzipitierenden Rezeptoren (Tafel II). Die Antitoxine stellen nach Ehrlich den einfachsten Typus der Rezeptoren dar, er nannte sie

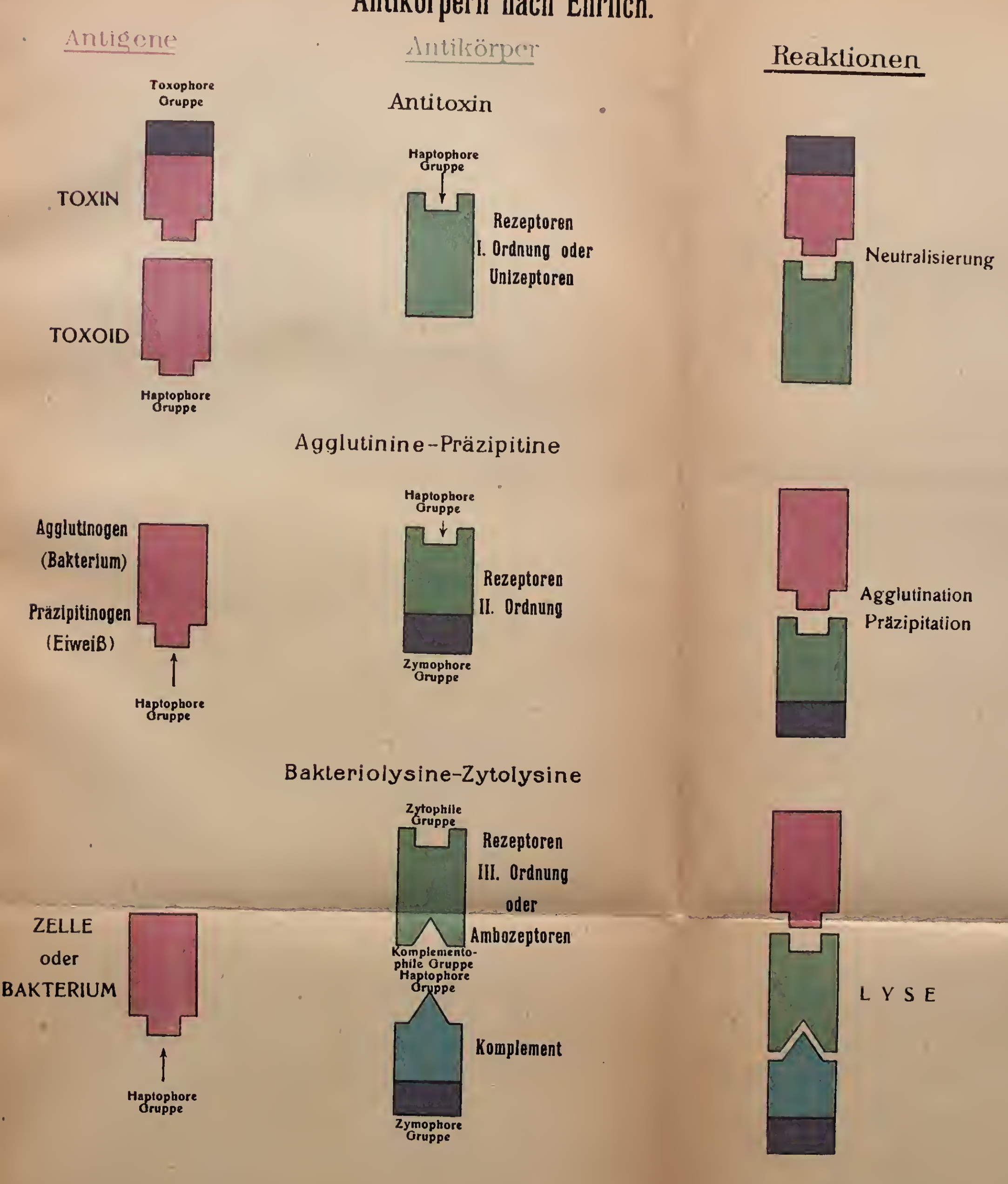
Ascoli, Grundriss der Serolog

Schema

Antigene



Schema der Reaktionen zwischen Antigenen und Antikörpern nach Ehrlich.



Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Verlag von J. Šafář in Wien u. Leipzig.

darum Rezeptoren 1. Ordnung; sie weisen nur eine haptophore Gruppe auf, die ihnen den Charakter von Rezeptoren verleiht. Die Agglutinine und Präzipitine sind schon komplizierter; neben der haptophoren Gruppe besteht in diesen Rezeptoren 2. Ordnung eine ergophore oder zymophore Gruppe, die die spezifische koagulierende Wirkung bedingt. Die Rezeptoren 3. Ordnung oder Ambozeptoren stehen noch um eine Stufe höher; an Stelle der ergophoren Gruppe weisen sie eine zweite haptophore Gruppe auf, die komplementophile, die eine besondere Affinität für das Komplement besitzt. Dieses letztere kann als eine ergophore Gruppe der Lysine aufgefaßt werden, die sich von ihnen abgestoßen hat; wie die ergophore Gruppe der Agglutinine und Präzipitine bei ihrer Umwandlung in Agglutinoide und Präzipitinoide zerstört wird, so verändert sich auch das Komplement leicht und seine Labilität ist sogar sein hervorragendstes Charakteristikum.

Hämolyse.

Kommen wir nun zu einem praktischen Beispiel, dem gewöhnlichsten Fall der Lyse, der Hämolyse. Die hämolytischen Immunsera, wie sie von Tieren, die mit Injektion von roten Blutkörperchen oder Blut vorbehandelt wurden, gewonnen werden, bewirken, gleich nach ihrer Entnahme mit dem antigenen Blut zusammengebracht, eine rasche Auflösung der roten Blutkörperchen oder, richtiger gesagt, den Austritt des darin enthaltenen Hämoglobins. Dieser Prozeß der Hämolyse kommt aber in zwei Etappen zustande: zuerst heftet, bindet sich der hämolytische Ambozeptor des Serums mittels seiner zytophilen Gruppe an das rote Blutkörperchen, wobei er es sensibilisiert, dann zieht die komplementophile Gruppe des Ambozeptors das Komplement an sich, wodurch die Hämolyse eintritt.

Zwei Phasen.

Die zwei Phasen des hämolytischen Prozesses, die bei frischem hämolytischem Serum wegen des raschen Auftretens des Phänomens in eine verschmelzen, können jedoch getrennt und genau unterschieden werden, wenn man das frische hämolytische Serum durch abgelagertes oder besser durch Wärme inaktiviertes hämolytisches Serum ersetzt. Das Abliegen des Serums oder noch einfacher seine Erwärmung auf 56° während einer halben Stunde zerstört das Komplement, so daß bei Mischung des derart inaktivierten hämolytischen Serums mit antigenem Blut oder roten Blutkörperchen nur die erste Phase eintreten kann, nämlich die Bindung des hämolytischen Ambozeptors an die Blutkörperchen.

1. Bindung des Ambozeptors.

In dieser Phase verbinden sich die roten Blutkörperchen mit dem Ambozeptor, sie sättigen sich damit dank der Affinität zwischen den Erythrozyten und den zytophilen Gruppen des Ambozeptors, aber es tritt kein sichtbares lytisches Phänomen ein. Trotzdem kann die stattgehabte Verbindung zwischen Ambozeptor und roten Blutkörperchen auf zweierlei Art demonstriert werden. Fügt man zu den roten Blutkörperchen inaktiviertes hämolytisches Serum hinzu, entfernt nach einiger Zeit letzteres wieder durch Zentrifugieren und wäscht sie mehrmals, so halten sie den Ambozeptor so fest, daß wenige Tropfen normalen frischen Serums — das gegen frische, in keiner Weise vorbehandelte Blutkörperchen vollkommen indifferent ist — genügen, um eine vollständige Hämolyse herbeizuführen. Umgekehrt verursacht das bei dem Versuch verwendete Serum, wenn man es durch Zentrifugieren zurückgewinnt, trotz eines genügenden Zusatzes von frischem Serum keine Hämolyse frischer roter Blutkörperchen mehr; dies beweist eben, daß der hämolytische Ambozeptor von den Erythrozyten dem Serum entzogen wurde und sich mit ihnen fest verbunden hat, so daß nicht einmal die wiederholte Waschung der roten Blutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung sie mehr zu trennen vermag.

2. Anziehung des Komplements.

Derart gebeizte rote Blutkörperchen, die mit Ambozeptoren gesättigt sind, nennt man sensibilisiert; sie sind für die Wirkung des Komplements empfindlich gemacht, so daß ein späterer Zusatz von wenigen Tropfen frischen Serums genügt, um die Hämolyse zu bewirken. Die Auflösung tritt ein, weil die sensibilisierten Blutkörperchen das Komplement des frischen Serums anziehen, indem sie ihm im Ambozeptor den Angriffspunkt, die Stütze bieten, die ihm gestattet, seine hämolytische Wirkung auszuüben.

Der Kampf um die Ehrlichsche Theorie und ihr Sieg.

Die Hämolyse ist auch wegen der Einfachheit und Eleganz des Phänomens das Schlachtfeld geworden, auf dem die klassischen Kämpfe zwischen den verschiedenen Schulen, zwischen Ehrlich, Bordet, Gruber, Bang ausgefochten wurden; an der Hand der Versuche mit der Hämolyse hat man die einander gegenüberstehenden Theorien geprüft und die erbittertsten Fehden in der Geschichte der Immunitätslehre ausgetragen.

Man ist nunmehr zu einem Waffenstillstand gekommen, insoferne obenstehende, von Ehrlich herrührende Anschauungen über den Mechanismus der Hämolyse in ihren Grundzügen überall anerkannt werden. Es mögen wohl noch Meinungsver-

schiedenheiten, speziell bei den Anhängern einer mehr physikalisch-chemischen Auffassung, bestehen, auch sind durch die nähere Analyse am Komplement ein Mittel- und ein Endstück nachgewiesen worden; doch ist die von Ehrlich gegebene Darstellung jetzt allgemein als die klassische, unserem Bedürfnisse nach einer einfachen Erklärung des Phänomens am besten entsprechende durchgedrungen. Die Ehrlichsche Theorie läßt es uns verständlich erscheinen, daß die Lyse, vorausgesetzt, daß ein Komplement vorhanden ist, bloß beim Zusammentreffen eines hämolytischen Immunserums mit dem homologen Antigen stattfindet, gibt uns aber auch eine Erklärung für das Auftreten heterogener Hämolysine (Forssman) wie der Isohämolysine; das sind Hämolysine für rote Blutkörperchen derselben Tierspezies, die der äußerst empfindlichen Reaktionsfähigkeit des Organismus auf die verschiedenen Molekülgruppen, die innerhalb ein und derselben Art existieren, zuzuschreiben sind. Von vornherein ausgeschlossen erscheint die Bildung von Autohämolysinen, d. h. solchen, die das eigene Blut auflösen. Auch gestattet uns diese Theorie eine allgemeine Bewertung der Versuche, mittels der Hämoagglutinine und Hämolysine die verschiedenen Menschenrassen, die unterschiedlichen Familien und die einzelnen Individuen derselben Rasse zu differenzieren; wir beurteilen sie schließlich als theoretisch interessante, aber praktisch erfolglose Versuche dort, wo man von ihnen z. B. eine Bestätigung des Mendelschen Gesetzes oder gar Feststellung der Paternität erwartet. Die Affinität zwischen dem Eiweiß von Individuen derselben Art überwiegt derart über die individuellen und Familienunterschiede, daß verläßliche Differentialdiagnosen innerhalb derselben Spezies ausgeschlossen erscheinen.

Hypothermolysin.

Bei einigen Blutkrankheiten, bei gewissen Anämien infolge von Würmern oder Protozoen konnte man auf Grund der hämolytischen Versuche die Wichtigkeit des hämolytischen Faktors bei ihrer Pathogenese erkennen. In diesen Fällen (Anämie bei Bothriocephalus und Anchylostomiasis) kommen hämolytische Lipoide (Ölsäure) in Betracht, die, per os eingeführt, die Anämie erzeugen können und in ihrem Bau von den spezifischen Hämolysinen ganz verschieden sind. Die Spezifität der Hämolysine klärte auch das Krankheitsbild der paroxysmalen Hämoglobinurie vollständig auf. Bei dieser Krankheit besteht im Serum ein Hämolysin, das sich nur bei niederer Temperatur an die

Erythrozyten bindet; der Anfall von Hämoglobinurie ist also durch das Auftreten der Veränderungen ausgelöst, die das rote Blutkörperchen durch die Kälte erleidet, da das Hyperthermolysin gerade auf solche durch die niedrige Temperatur veränderte rote Blutkörperchen eingestellt ist und nur bei diesen den richtigen Angriffspunkt findet.

Isohämolysin bei der Bluttransfusion.

Man findet im Kolostrum und in der Milch kranker Frauen verhältnismäßig mehr Komplement als in normaler Milch; dies wurde neben den morphologischen Untersuchungen als biologische Methode zur Differenzierung und Diagnose vorgeschlagen. Aber der wahre praktische Wert der hämolytischen Untersuchungen an sich, abgesehen von ihrer indirekten Verwendung bei der Wassermannschen Reaktion, wurde erst im Kriege ins rechte Licht gerückt, wo die Bluttransfusionen von einem Individuum auf das andere leider an der Tagesordnung waren. Dank den Versuchen über Hämolyse war es nicht bloß möglich, die Auflösung der roten Blutkörperchen, die zuweilen bei Bluttransfusionen im Blute des Empfängers auftritt und Schaden statt Nutzen stiftet, auf isohämolytische Interferenzen zwischen Spender- und Empfängerblut zurückzuführen, sondern man hat auch gelernt, mittels systematischer Untersuchungen die Ursachen zu entdecken und auszuschalten, die die gefürchtete Erscheinung der Hämolyse in vitro erzeugen, und zu zeigen, wie sie zu verhindern sind und die Anwendung ungeeigneten Blutes zu vermeiden ist.

Als Indikator der hämolytischen Wirkung dient die Agglutination, die innerhalb weniger Minuten auftritt, wenn man in vitro Spender- und Empfängerblut mischt. Der Versuch wird ausgeführt, indem man in zwei Röhrchen, die eine 1%ige Lösung von oxalsaurem Natron enthalten, ein wenig Spender- resp. Empfängerblut gibt, so daß in jedem Röhrchen auf einen Teil Lösung neun Teile Blut kommen. Man zentrifugiert kurz, um bei jedem Röhrchen die Abscheidung der roten Blutkörperchen vom Plasma zu erzielen und bringt das Plasma des einen mit den roten Blutkörperchen des anderen im Verhältnis von einem Tropfen Erythrozyten auf neun Tropfen Plasma zusammen. Die Agglutination, die das Vorhandensein zuerst agglutinierender, dann hämolytischer Antikörper verrät, ist mit bloßem Auge zu erkennen, weil die roten Blutkörperchen sich zusammenballen und Haufen bilden, die man der Glaswand entlang rollen sieht, wenn man das Röhrchen bewegt.

Technik der Hämolysinuntersuchung.

Die von Ehrlich und Morgenroth angegebene Technik für die Hämolysinuntersuchung wird jetzt von allen Forschern angewendet, die sich bei ihren theoretischen Studien und für praktische Zwecke dieser Reaktion bedienen; sie hat den

Vorzug, eine genaue Bewertung der einzelnen Elemente zu gestatten.

Hämolytisches System.

Das sogenannte hämolytische System setzt sich aus drei Elementen zusammen: es sind die roten Blutkörperchen, das inaktivierte hämolytische Serum (der hämolytische Ambozeptor) und das frische Serum (Komplement). Die roten Blutkörperchen werden gewonnen, indem man das Blut defibriniert, das Serum durch Zentrifugieren abscheidet und die abgesetzten Blutkörperchen mehrmals (dreimal) in physiologischer Kochsalzlösung wäscht. Man verwendet zu jeder Untersuchung 1 cm^3 einer 5%igen Aufschwemmung der Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung. Das hämolytische Serum gewinnt man von Tieren (Kaninchen, Schafen, Pferden) mit den gewöhnlichen Methoden der Immunisierung mittels gewaschener roter Blutkörperchen. Das Immunserum muß vor seiner Verwendung durch eine halbstündige Erwärmung auf 56° im Wasserbad inaktiviert worden sein; gewöhnlich wird es von den Instituten schon inaktiviert geliefert. Das Komplement wird von frischem Meerschweinchenserum dargestellt, das im Augenblicke des Bedarfes steril entnommen wird; selbstverständlich sind alle Akte der hämolytischen Untersuchungen überhaupt mit genauester Befolgung aller Regeln der Asepsis vorzunehmen.

Hämolytisches Serum.

Komplement von Meerschweinchen.

Hämolytischer Versuch.

Die hämolytischen Versuche werden in gewöhnlichen Reagensröhrchen ausgeführt, indem man die drei Bestandteile in den gewünschten Konzentrationen mischt und die Mischung in einen Thermostaten von 37° bringt; man muß zuerst alle Proben mit Kochsalzlösung auf dasselbe Volumen (2·0—3·0 cm^3) bringen, um die verschiedenen Abstufungen der roten Färbung, die die Flüssigkeit infolge der Hämolyse annimmt, auch quantitativ abschätzen zu können. Das Ablesen des Resultates erfolgt, nachdem das System einige Stunden im Thermostaten bei 37° und dann noch durch 12 Stunden im Eiskasten gehalten wurde, damit die ungelösten Blutkörperchen sich absetzen können.

Farbenskala.

Man wird sodann, je nach der größeren oder geringeren Verdünnung des hämolytischen Serums, resp. des Komplements, die man angewendet hat, eine ganze Skala von Färbungen sehen, von der kompletten Hämolyse, bei der alle Blutkörperchen aufgelöst sind und die Flüssigkeit lebhaft rot ist, bis zur unvollständigen Hämolyse, zur angedeuteten Hämolyse und schließlich bis zum absoluten Fehlen der Hämolyse, wobei die Flüssig-

keit klar und farblos bleibt und die roten Blutkörperchen sich unverändert am Boden abgesetzt haben.

Auswertung.

Man kann übrigens das hämolytische Serum sowie das Komplement auswerten, indem man eine ausreichende Menge des einen der beiden Bestandteile hinzufügt und mit den Dosen des anderen heruntergeht, bis die Hämolyse inkomplett wird und dann ausbleibt. Man sagt, daß ein hämolytisches Serum den Titer 1:1000 hat, wenn in Gegenwart einer genügenden Menge von Komplement (0·1 frischen Meerschweinchenserums) $^1/_{1000}$ cm^3 davon hinreicht, um eine komplette Hämolyse zu ergeben; mit anderen Worten: 0·001 ist die Einheit des in einem solchen Serum enthaltenen Ambozeptors. Die Einheit des Komplements, die kleinste Dosis, die genügt, um eine komplette Hämolyse zu erzielen, findet man umgekehrt, indem man bei genügender Ambozeptormenge (2 Einheiten) die Dosis des Komplements stufenweise vermindert, bis die Hämolyse inkomplett wird und schließlich ausbleibt; als Einheit des Komplements betrachtet man die kleinste Dosis, bei der noch komplette Hämolyse eintritt.

Hämolytische Einheiten.

Das folgende Schema dient zur Aufzeichnung der zur Auswertung des hämolytischen Serums (Ambozeptor) und des Komplements angestellten Proben.

Schema zur Auswertung des Ambozeptors und des Komplements.

	Inaktiviertes hämolytisches Serum (Ambozeptor)	Rote Blutkörperchen in einer 5%igen Aufschwemmung	Komplement (frisches Meerschweinchenserum)		Resultate
Wert des hämolytischen Serums	1.) 0·01	1.) 1 cm^3	1.) 0·1	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	1
	2.) 0·005	2.) 1 „	2.) 0·1		2
	3.) 0·002	3.) 1 „	3.) 0·1		3
	4.) 0·001	4.) 1 „	4.) 0·1		4
	5.) 0·0005	5.) 1 „	5.) 0·1		5
	6.) 0·0006	6.) 1 „	6.) 0·1		6

	Komplement (Meerschweinchenserum)	Rote Blutkörperchen in einer 5%igen Aufschwemmung	Inaktiviertes hämolytisches Serum (Ambozeptor) auf $^1/_2$ des Titers verdünnt; 1 cm^3 enthält:		Resultate
Wert des Komplements	a) 0·1	a) 1 cm^3	a) 2 hämolytische Einheiten	15 Minuten bei 37° im Wasserbad	a)
	b) 0·08	b) 1 „	b) 2 „ „		b)
	c) 0·06	c) 1 „	c) 2 „ „		c)
	d) 0·04	d) 1 „	d) 2 „ „		d)
	e) 0·02	e) 1 „	e) 2 „ „		e)

Um Irrtümer in den Maßen zu vermeiden, wird das Komplement gewöhnlich mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 : 10 verdünnt und dann die doppelte Menge wie im Schema angegeben für jede Probe verwendet.

Die gesuchte Einheit entspricht der niedersten Zahl der ersten Reihe in der oberen Hälfte des Schemas, der unter den in der letzten Reihe parallel aufgeführten Resultaten noch die komplette Hämolyse entspricht. Sie ist z. B. 0·001, wenn in den Versuchen 1—4 die Hämolyse komplett ist, inkomplett oder fehlend bei den Nummern 5 und 6; man wird den Titer des Serums 1 : 1000 nennen, weil es im Verhältnis 1 : 1000 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt werden muß, damit in 1 cm^3 der Verdünnung genau eine hämolytische Einheit enthalten sei.

In ganz analoger Weise ist die Einheit beim Komplement aus der ersten Reihe in der unteren Hälfte des Schemas zu entnehmen. Sie wird z. B. 0·06 frischen Meerschweinchenserums entsprechen, wenn die Hämolyse nach 15 Minuten bei den Versuchen a), b) und c) inklusive komplett, bei d) und e) inkomplett oder fehlend war.

Ist der Wert des inaktivierten, hämolytischen Serums schon von der Bezugsquelle angegeben, z. B. hämolytisches Serum für Hammelblutkörperchen zum Titer 1 : 1000, so gestaltet sich die Nachprüfung des Titers einfach folgendermaßen:

Reagensröhrchen	Hämolytisches Serum (auf 1 : 1000 verdünnt)	Komplement	5%ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Physiologische NaCl-Lösung		Resultate
1	1 cm^3	0·1 cm^3	1 cm^3	—	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	Hämolyse
Kontrollen 2	1 „	—	1 „	0·1 cm^3		Keine Hämolyse
Kontrollen 3	—	0·01 cm^3	1 „	1 „		„

Die Verdünnung des inaktivierten hämolytischen Serums auf 1 : 1000 erfolgt in der Weise, daß man 1 cm^3 des Serums mit 9 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung verdünnt; von dieser ersten Lösung 1 cm^3 wieder mit 9 cm^3 Kochsalzlösung verdünnt, von dieser zweiten Lösung abermals 1 cm^3 mit 9 cm^3 Kochsalzlösung verdünnt. Diese dritte Lösung enthält, wenn zu jeder Verdünnung reine, trockene und sterile Pipetten verwendet wurden, in 1 cm^3 genau 0·001 Serum, also eine hämolytische Einheit, da der Titer auf 1 : 1000 angegeben war.

Die Auswertung des Komplements hat hingegen stets nach dem angegebenen Schema zu erfolgen. Jedoch ist zu bemerken, daß, um Fehler

beim Messen der kleinen Dosen zu vermeiden, das Komplement gewöhnlich mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 1 : 10 (d. h. 1 Teil Meerschweinchenserum + 9 Teile physiologischer Kochsalzlösung) verdünnt und von dieser Lösung dann zu jeder Probe das Zehnfache der im Schema stehenden Zahl verwendet wird. Um nicht immer die im Schema angegebenen 2 Stunden abwarten zu müssen, kann die Einheit mit einer in der Praxis ausreichenden Sicherheit festgestellt werden, wenn man die Proben statt im Brutschrank eine Viertelstunde bei 37° im Wasserbad hält.

Kobra-hämolyse.

Wir wollen das Kapitel nicht beenden, ohne auch der dem Schlangen- und namentlich dem Kobragift eigenen hämolytischen Wirkung Erwähnung zu tun, um so mehr, als die Kobragifthämolyse eines der interessantesten Kapitel der Biologie darstellt.

Das Kobrahämolysin hat nämlich die Eigentümlichkeit, einige Blutarten (Rinder-, Hammel- und Ziegenblut) nur dann aufzulösen, wenn neben den Erythrozyten noch Serum vorhanden ist, während andere Blutarten (Hunde-, Meerschweinchen-, Menschen-, Schweine-, Kaninchen-, Pferdeblut) auch ohne Vorhandensein von Serum zur Auflösung kommen. Werden die ersteren drei Blutsorten durch Waschen vom Serum befreit und mit Kobragift gemischt, so bleibt jede Hämolyse aus, tritt jedoch bei nachfolgendem Zusatz von Serum bald ein.

Nach v. Dungern und Coca erklärt sich die Schlangengifthämolyse derart, daß ein im Gift enthaltenes Ferment das Lezithin unter Abspaltung von Ölsäure zersetzt, die bekanntlich stark hämolytisch wirkt. Zweifellos gehört die wirksame, das Gift aktivierende Substanz zu den Lipoiden; ob das Lezithin der einzige oder in allen Fällen der wichtigste Faktor ist, kann bisher nicht als entschieden gelten.

Der Kobragifthämolysinversuch gestaltet sich folgendermaßen: das Blut wird in einem mit Glasperlen beschickten sterilen Kolben aufgefangen und durch kräftiges Schütteln defibriniert. Hierauf wird das Serum durch Zentrifugieren von den Erythrozyten abgeschieden und abgegossen. Der Erythrozytenrückstand wird mit physiologischer Kochsalzlösung gemischt, neuerdings zentrifugiert und dieses Verfahren so oft wiederholt, bis das Serum gänzlich entfernt ist. Das Blut kommt in 5%iger Verdünnung zur Anwendung: man entnimmt mittels einer Pipette 1 cm^3 der gewaschenen Erythrozyten und schwemmt diese in 19 cm^3 NaCl-Lösung auf.

Als Aktivatoren dienen Sera in einer Dosis von 0·2 cm^3 oder eine einzehntelpromillige Lezithinlösung (1 *g* Lezithin in 100 cm^3 Methylalkohol als Stammlösung, von der 0·1 cm^3 mit 9·9 cm^3 physiologischer

Kochsalzlösung gemischt wird). 1 *mg* Kobragift bringt in 5—10 Minuten 1 cm^3 5%igen Pferdebluts zur Auflösung.

bei Tuberkulose.

Wie Calmette nachweisen konnte, enthält das Blutserum Tuberkulöser mehr Lezithin als jenes normaler Individuen. Es vermag also dieses Serum schon in kleineren Dosen die Kobragifthämolyse zu aktivieren, so daß bei der Mischung mit Kobragiftmengen, die allein Pferdeblut nicht mehr aufzulösen vermögen, die Hämolyse doch noch eintritt, wenn das Serum eines Tuberkulösen zugefügt wird.

Die Ergebnisse von Calmette wurden von mehreren Forschern bestätigt, von anderen hingegen nicht. Es wird nicht nur die Spezifität der Reaktion für Tuberkulose in Abrede gestellt, da Sera der verschiedensten Krankheitsformen Kobragift in gleicher Weise aktivieren, sondern es erscheint auch fraglich, ob es sich bei der wirksamen Substanz wirklich um Lezithin oder ein Lipoid handle, oder ob nicht eher anzunehmen sei, daß durch die Mischung mit Kobragift die Pferdeblutkörperchen in ihrer Resistenz geschädigt werden, so daß sie äußeren Einflüssen leichter erliegen.

Psychoreaktion.

Much und Holzmann gaben an, daß das Serum von an depressiver Manie, zirkulärem periodischem Irresein und an Dementia praecox leidenden Menschen die Kobragifthämolyse menschlicher Blutkörperchen zu hemmen vermöge. Es soll diese Reaktion charakteristisch sein und die Unterscheidung dieser Krankheiten von anderen ähnlichen Zuständen, wie Neurasthenie, Hysterie, Imbezillität, senile Demens usw. gestatten. Umfangreiche Nachprüfungen haben jedoch der Methode die Spezifität abgesprochen, da nicht nur bei Geisteskranken, sondern auch bei Gesunden, namentlich bei Neugeborenen, positive Reaktionen erzielt wurden. Von einer praktischen Anwendung dieser Psychoreaktion kann somit nicht die Rede sein.

Bakteriolyse.

Die Bakteriolyse ist der Hämolyse in ihrem Wesen ähnlich. Das Antigen wird dabei vom Bakterium gebildet, der Ambozeptor vom antibakteriellen inaktivierten Immunserum, das Komplement wiederum von frischem Serum.

Das Bakterium ist imstande, dem inaktivierten Immunserum den Ambozeptor zu entziehen und ihn festzuhalten, indem er so sensibilisiert bleibt, und auch hier gehört frisches Serum dazu, um die Bakteriolyse in Gang zu bringen. Die Erscheinung kann also zum Nachweis und zur weiteren Erforschung jener

Gesetze benützt werden, die man bei Anwendung des hämolytischen Systems gefunden hat, aber sie verlangt mikroskopische Untersuchungen und Kulturverfahren, wodurch sie für eine ausgedehntere und allgemeine Verbreitung weniger geeignet wird, als die Hämolyse mit ihrer außerordentlichen Einfachheit und Klarheit. Bei der Bakteriolyse kann man durch Veränderung des Verhältnisses zwischen Ambozeptor und Komplement ebenso, wie ich es bei der Hämolyse detailliert beschrieben habe, die kleinsten Mengen berechnen, die nötig sind, um die Auflösung zu bewirken.

Die Bakteriolyse dient zum Unterschied von der Hämolyse, die mehr als Indikator angesehen als zur Erforschung eines der Elemente des hämolytischen Systems benützt wird, namentlich zur Identifizierung von Mikroorganismen, unter Heranziehung geeigneter spezifischer Immunsera; der Versuch wird aber nicht in vitro angestellt, sondern nach Art der ursprünglichen Form des Pfeifferschen Phänomens, wobei an Stelle des frischen Meerschweinchenserums das Peritonealexsudat als Komplement dient. Der bakteriolytische Versuch kann unter anderem bei Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen zur Unterscheidung und zum näheren Studium der fraglichen Keime herangezogen werden, er bildet aber in erster Linie noch heute eines der klassischen Verfahren zur Identifizierung choleraverdächtiger Kulturen. Erfolgt nämlich eine Auflösung des verdächtigen Keimes, wenn man ihn mit Choleraserum zusammen einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, so ist damit seine Natur als echter Cholerabazillus bewiesen.

Serumdiagnose der Cholera.

Zur Choleradiagnose mittels des Pfeifferschen Versuches dienen in der Regel 4 je etwa 200 *g* schwere Meerschweinchen. Auf drei Reagensröhrchen verteilt man je 1 cm^3 Bouillon und schwemmt darin je eine Öse der (ungefähr 18stündigen) verdächtigen Kultur auf. Zum ersten Röhrchen fügt man nun eine Dosis Choleraimmunserum hinzu, welche das Fünffache der Titerdosis beträgt: ist z. B. der Titer des zur Verfügung stehenden Serums 1 *mg*, so wird man 5 *mg*, d. h. 1 cm^3 der Serumlösung von 1 : 200 hinzutun. Das zweite Röhrchen wird mit der 10fachen Titerdosis des Serums beschickt, d. h. bei einem gleichen Titer von 1 *mg* mit 10 $mg = 1\ cm^3$ der Serumverdünnung von 1 : 100. Das dritte Röhrchen dient zur Kontrolle und wird mit Normalserum von der gleichen Tierart, welche das Immunserum geliefert hat, beschickt, und zwar mit einer 20 Einheiten des Immunserums entsprechenden Dosis; in unserem Falle mit 20 $mg = 1\ cm^3$ der Verdünnung von 1 : 50. In einem vierten, ebenfalls zur Kontrolle dienenden Röhrchen wird endlich bloß 1 Öse der verdächtigen Kultur in 3 cm^3 Nährbouillon aufgeschwemmt. Der

Inhalt der ersteren drei Röhrchen wird nun je einem Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt. Ein viertes Meerschweinchen erhält, ebenfalls in die Bauchhöhle, 1 cm^3 des Inhaltes des vierten Röhrchens, was einem Drittel einer Öse entspricht. Nach 5, dann wieder nach 20 Minuten und nach 1 Stunde wird mittels Pasteurscher Pipetten den Versuchstieren etwas Peritonealexsudat entnommen, das gewöhnlich durch Kapillarität aufsteigt, aber auch aufgesogen werden kann, und die Flüssigkeit im hängenden Tropfen untersucht. Handelt es sich in der Tat um Choleravibrionen, so verlieren in den Präparaten des ersten und zweiten Röhrchens die Keime zuerst ihre Beweglichkeit, um sich hierauf in Körnchen umzuwandeln, die der Auflösung anheimfallen. In den Präparaten des dritten und vierten Röhrchens bleiben die Vibrionen hingegen gut erhalten und beweglich. Die Probe läßt sich durch Weglassen des ersten Meerschweinchens noch vereinfachen; es können auch gefärbte Präparate hergestellt werden.

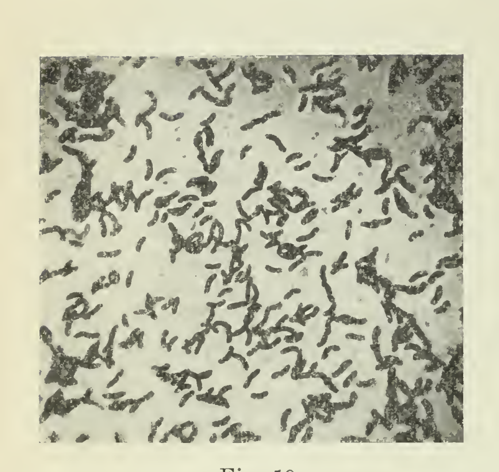


Fig. 19.
Normale Choleravibrionen (vergr. 1 : 1000).



Fig. 20.
Auflösung der Vibrionen (1. Stadium).



Fig. 21.
Auflösung der Vibrionen (2. Stadium).

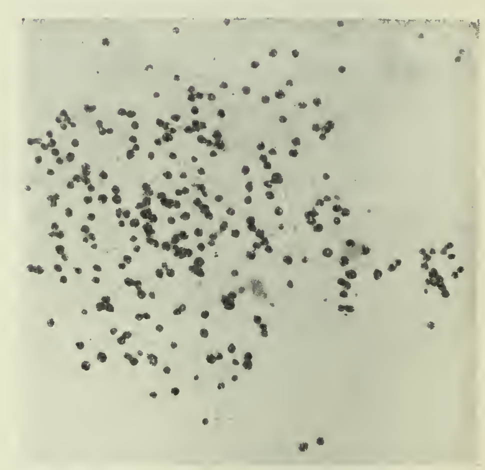


Fig. 22.
Auflösung der Vibrionen (3. Stadium).

Pfeiffersches Phänomen.
Serodiagnose der Cholera.

(Aus Pfeiffer: „Infektion und Immunität“ und Friedberger und Pfeiffer: „Lehrbuch der Mikrobiologie“, Verlag G. Fischer, Jena.)

Achtes Kapitel.

Komplementablenkung.

Neißer-Wechsbergsches Phänomen. — Reaktion von Bordet-Gengou und Moreschi. — Anwendungen und Technik. — Diagnose der Echinokokkose, des Rotzes usw. — Konglutination. — Hämoagglutination. — Ablenkungsreaktion in der gerichtlichen Medizin. — Nachweis komplementbindender Substanzen beim seuchenhaften Verwerfen — bei Trichinose — bei immunen Tieren — bei Bazillenträgern. — v. Dungernsche Krebsdiagnose. — Auswertung des Malleins.

Ablenkung des Komplements.

Neißer und Wechsberg stellten bei der Auswertung des bakteriolytischen Ambozeptors fest, daß, wenn man den Bakterien bei Gegenwart einer genügenden Menge von Komplement steigende Quantitäten des Ambozeptors zusetzt, die Bakteriolyse von einem gewissen Punkte an ausbleibt. Diese paradoxe Erscheinung ist unter dem Namen Neißer-Wechsbergsches Phänomen oder Komplementablenkung bekannt. Auf Grund der Ehrlichschen Theorie läßt sie sich leicht durch die Annahme erklären, daß die Ambozeptoren in einem gegebenen Moment zu zahlreich werden, um sämtlich von den vorhandenen Bakterien gebunden werden zu können; die freibleibenden ziehen mittels der komplementophilen Gruppen einen Teil des Komplements an sich, indem sie es von den an die Bakterien verankerten Ambozeptoren ablenken, die allein befähigt sind, die lytische Wirkung des Komplements auf das Bakterium zu vermitteln.

Bindung des Komplements.

Aber nicht nur ein Überschuß an freien Ambozeptoren ist imstande, das Komplement anzuziehen, auch der an die Zelle gebundene Ambozeptor reißt das Komplement an sich und entzieht es dem Gemisch; die Sensibilisierung hat denn auch keinen anderen Zweck, als die Bakterien so vorzubereiten, daß das

Komplement sich anheften kann. Wenn wir ein Bakterium mit dem entsprechenden inaktivierten bakteriolytischen Serum und mit frischem Serum (Komplement) zusammenbringen, so wird es sich zuerst mit den darauf abgestimmten Ambozeptoren sättigen und dann erst, wenn es auf diese Weise sensibilisiert ist, das Komplement an sich reißen und so dem Gemisch entziehen; nun erst wird der wirkliche und eigentliche Prozeß der Auflösung eintreten.

Konkurrenz zwischen zwei lytischen Systemen.

Das System Bakterium + Ambozeptor + Komplement wird also nach einer gewissen Zeit kein freies Komplement mehr enthalten, weil dieses vollständig aufgebraucht oder, wie man zu sagen pflegt, gebunden ist. Wenn wir in diesem Moment der Mischung sensibilisierte rote Blutkörperchen oder einfach, was dasselbe ist, rote Blutkörperchen und inaktiviertes hämolytisches Serum zusetzen, so bleibt die Hämolyse aus; denn dieses zweite lytische System findet nicht mehr genug verfügbares Komplement vor, damit auf die erste Phase der Anziehung der hämolytischen Ambozeptoren von seiten der Blutkörperchen die Bindung des Komplements mit daraüffolgender Hämolyse eintreten kann.

Komplementbindungsreaktion von Bordet, Gengou und Moreschi.

Diese Beobachtung von Bordet und Gengou, deren Tragweite erst infolge der Untersuchungen von Moreschi erkannt wurde, ist der Ausgangspunkt für die Komplementbindungsreaktion geworden, welche den Namen eben dieser Forscher trägt. Die Bordet-Gengousche Reaktion ist spezifisch, natürlich innerhalb gewisser Grenzen, wie alle Reaktionen zwischen Antikörpern und Antigenen. Sie kann also zu diagnostischen Zwecken verwendet werden, weil die Hämolyse ausbleibt, sobald ein Mikroorganismus mit dem entsprechenden Antikörper zusammentrifft, hingegen stattfindet, wenn der Antikörper keine auf den Keim abgestimmten Ambozeptoren enthält. Die Komplementbindung, auch Komplementablenkung genannt, tritt z. B. auf, wenn der Typhusbazillus mit (inaktiviertem) Typhusserum zusammengebracht wird; sie bleibt aus, wenn man dem Typhusbazillus Choleraserum zusetzt. (Tafel III.) In analoger Weise tritt bei einem homogenen System: Choleravibrio + Choleraserum Komplementbindung ein und dementsprechend bleibt die Hämolyse aus. Bei einem heterogenen System: Choleravibrio + Typhusserum findet hingegen keine Ablenkung statt und die Hämolyse wird in keiner Weise

gehemmt. Wegen ihres streng spezifischen Charakters kann die Reaktion zur Unterscheidung des Choleravibrio von cholera-ähnlichen Keimen, sowie des Typhus von der Cholera und vom Paratyphus angewendet werden. Umgekehrt kann sie auch zur Ermittlung von Ambozeptoren gegen Typhus und gegen Cholera in einem Serum von verdächtiger Herkunft dienen.

Diagnostische Anwendungen der Methode.

Die Komplementbindungsreaktion kann also die sonstigen serodiagnostischen Methoden ersetzen, weil sie ebenso wie diese zum Nachweis von Antikörpern oder Antigenen bakteriellen Ursprungs überhaupt dient. Die Vorgänge der Agglutination, der Präzipitation und der Lyse können aber direkt mit dem Auge beobachtet werden, die Komplementbindungsmethode hingegen verlangt die Anwendung sensibilisierter roter Blutkörperchen als indirekten Indikators des bakteriolytischen Prozesses, der unseren Sinnen nicht unmittelbar zugänglich ist.

Allgemeine Bedeutung der Ablenkungsreaktion.

Moreschi, welcher für die antikomplementäre Wirkung der Antisera an Stelle der Annahme von besonderen gegen das Komplement gerichteten Antikörpern die richtige Deutung einer Komplementbindung seitens des Komplexes (Antikörper + Antigen) lieferte, gab uns damit den Schlüssel zur Verwertung des Phänomens als allgemeiner serodiagnostischer Methode, das überall auftritt, wo ein Antigen mit einem entsprechenden Antikörper reagiert.

Mit einem Antigen, dessen Herkunft man kennt, kann man im Serum, in den Körpersäften, in den Sekreten und Exkreten den entsprechenden Antikörper nachweisen; seine Gegenwart wird von der durch das Ausbleiben der Hämolyse angezeigten Bindung des Komplements verraten, die innerhalb gewisser Grenzen nur dort auftritt, wo das Antigen den zugehörigen Antikörper findet. Auch der Nachweis der Antigene ist ebenso leicht durchführbar, weil man bei Verwendung von Antikörpern bekannter Herkunft ihr Vorkommen in einem beliebigen Gemisch wieder auf Grund der Komplementbindung, d. h. der Hemmung der Hämolyse, entdecken kann.

Die Reaktion von Bordet und Gengou bildet daher eine der beliebtesten und am meisten verbreiteten Methoden, über die die Serodiagnostik bis jetzt verfügt.

Technik der Reaktion.

Sie verlangt aber eine sehr gewissenhafte Technik und eine große Anzahl von Kontrollversuchen, will man sich vor den

zahlreichen Fehlerquellen schützen. Man muß jedem Versuch die genaue Auswertung des hämolytischen Serums und des Komplements, die zur Verwendung gelangen sollen, vorausschicken; diese Auswertung wird nach den im vorigen Kapitel aufgestellten Vorschriften ausgeführt. Man nimmt dann zu jedem Versuch vorher bestimmte Mengen der einzelnen Bestandteile des ausgewerteten hämolytischen Systems, das als Indikator dient. Und zwar benützt man zu jeder Probe von der 5%igen Aufschwemmung roter Blutkörperchen regelmäßig je 1 cm^3, vom hämolytischen Ambozeptor je 2—3 Einheiten, d. h. das Zwei- bis Dreifache der kleinsten hämolytischen Dosis, vom Komplement die Dosis, die im Vorversuch genügte, um mit dem Antikörper allein oder dem Antigen allein eine komplette Hämolyse der sensibilisierten roten Blutkörperchen zu veranlassen. Es ist jedoch notwendig, dem Hauptversuch einen Vorversuch voranzuschicken, um ausschließen zu können, daß Antikörper oder Antigen für sich allein in den angewendeten Mengen antikomplementär wirken.

Biologische Diagnose der Echinokokkose.

Ein Beispiel soll uns die Anordnung der Vorversuche und der entscheidenden Hauptreaktionen erläutern, wie sie zur biologischen Diagnose der Echinokokkose ausgeführt werden. (Siehe Tabelle auf Seite 177.)

Vorversuche.

Bei den Vorversuchen wird die kleinste Dosis des Komplements festgestellt, die bei Anwesenheit des Antikörpers (Krankenserum) oder des Antigens (Zystenflüssigkeit vom Schaf), sowie auch des normalen Kontrollserums für sich allein ausreicht, um die Lyse der sensibilisierten, d. h. mit der festgestellten Ambozeptorenmenge versetzten roten Blutkörperchen hervorzurufen.

Hauptversuch.

Beim Hauptversuch ist die so ermittelte Menge des Komplements nicht mehr ausreichend, um in Gegenwart von Krankenserum + Zystenflüssigkeit die sensibilisierten roten Blutkörperchen aufzulösen. Das normale Kontrollserum hingegen ist trotz Zusatz von Zystenflüssigkeit nicht imstande, Komplement zu binden, so daß letzteres frei und zur Verfügung der sensibilisierten roten Blutkörperchen bleibt, weshalb in den entsprechenden Röhrchen die klassische komplette Hämolyse eintritt.

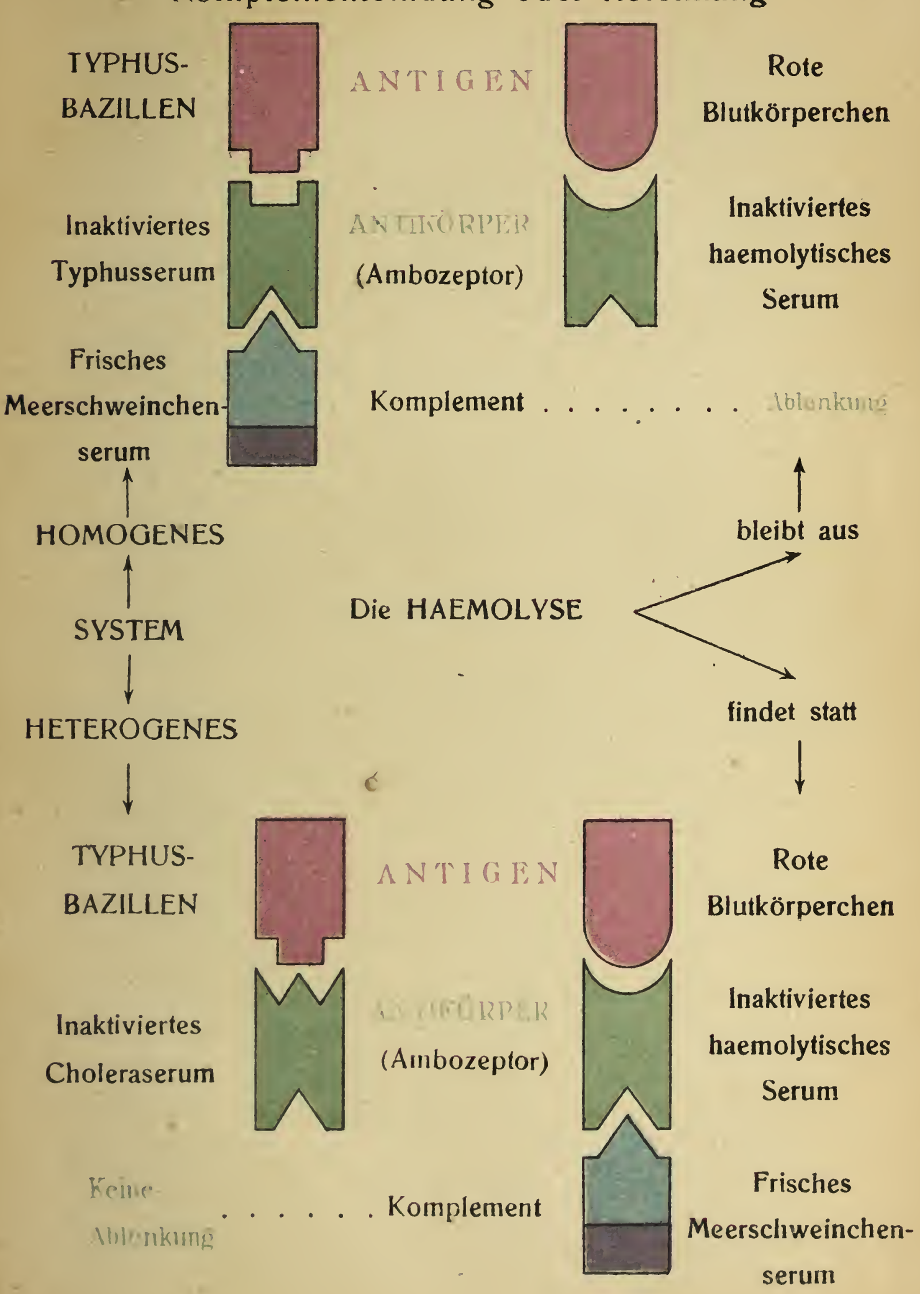
Erster Teil.

Die Ausführung des Komplementablenkungsversuches zerfällt in zwei Teile: Zunächst verteilt man in die einzelnen Röhrchen Antigen, Antikörper und Kontrollflüssigkeit in der in dem Schema genau detaillierten Menge und Weise; man setzt jeder Eprouvette die gewünschte Dosis Komplement zu und füllt dann mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 cm^3 auf. Hierauf gibt man die gut durchgeschüttelten Röhrchen in den Thermostaten von 37°. Nach einer halben Stunde erst fügt man die sensibilisierten roten Blutkörperchen hinzu, d. h. 1 cm^3 der 5%igen Aufschwemmung der roten Blutkörperchen und 2 Einheiten des

Zweiter Teil.

Reaktion von Bordet und Gengou.

Komplementbindung oder Ablenkung



Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Verlag von J. Šafář in Wien u. Leipzig.



Reaktion von Bordet-Gengou bei der Echinokokkose

(Reaktion von Ghedini-Weinberg).

Anordnung der Vorversuche.

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvetten	Antikörper (Inaktiviertes Serum) resp. Antigen	Komplement verdünnt auf 1 : 10	Physiologische Kochsalzlösung		Fünfprozentige Aufschwemmung roter Hammelblutkörperchen	Ambozeptor auf $^1/_2$ d. Titers verdünnt (siehe Auswertung S. 176)		Resultate
1	0·5 Krankenserum	1 Einheit	soviel, daß die Menge 2 cm^3 beträgt	$^1/_2$ Stunde in den Brutschrank bei 37°	1 cm^3	je 2 Einheiten in einem cm^3	2 Stunden in den Brutschrank bei 37°	Komplette Hämolyse
2	0·5 Normales Serum	1 Einheit			1 cm^3			
3	0·4 Zystenflüssigkeit	1 Einheit			1 cm^3			

Anordnung des Hauptversuches.

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvetten	Antikörper (inaktiviertes Serum)		Antigene Zystenflüssigkeit	Komplement verdünnt auf 1 : 10	Physiologische Kochsalzlösung		Fünfproz. Aufschwemmung roter Hammelblutkörperchen	Ambozeptor auf $^1/_2$ d. Titers verdünnt (siehe Auswertung S. 176)		Resultate
1	0·2	Krankenserum	0·4	1 Einheit	soviel, daß die Menge 2 cm^3 beträgt	$^1/_2$ Stunde in den Brutschrank bei 37°	1 cm^3	je 2 Einheiten in einem cm^3	2 Stunden in den Brutschrank bei 37°	Keine Hämolyse
2	0·3		0·4	id			1 cm^3			
3	0·4		0·4	id			1 cm^3			
4	0·5		0·4	id			1 cm^3			
5	0·2	Normales Kontrollserum	0·4	id			1 cm^3			Komplette Hämolyse
6	0·3		0·4	id			1 cm^3			
7	0·4		0·4	id			1 cm^3			
8	0·5		0·4	id			1 cm^3			

hämolytischen Ambozeptors, schüttelt nochmals durch und gibt die Mischung abermals für 2 Stunden in den Thermostaten. Die Ablesung der Resultate erfolgt tags darauf, nachdem man die Röhrchen über Nacht im Eisschrank aufbewahrt hat.

Der Grad der Hämolyse wird nach der Färbung beurteilt, die die Flüssigkeit angenommen hat. Bei der Ablesung der Resultate pflegt man drei Fälle zu unterscheiden: die komplette Hämolyse einerseits und das völlige Fehlen der Hämolyse andererseits; dazwischen stehen als partielle Hämolyse alle Abstufungen der inkompletten Lösung, die von einer schwachen Rosafärbung der Flüssigkeit bis zur Anwesenheit von Spuren nicht aufgelöster roter Blutkörperchen gehen, die sich am Boden der Röhrchen von der mehr oder minder dunkelroten Flüssigkeit abgesetzt haben. Die Beurteilung der Resultate fällt nicht schwer, wenn nur die Kontrollversuche den angeführten Forderungen genügen.

Positive, negative, zweifelhafte Reaktion.

Die Komplementbindungsreaktion ist als eine positive zu betrachten, wenn in dem Röhrchen, das Antigen + Antikörper enthält, gar keine Hämolyse stattgefunden hat, und wenn dagegen in den Röhrchen, die entweder das eine oder das andere für sich allein oder normales Serum allein, resp. mit Antigen, enthalten, die Hämolyse komplett ist, doch natürlich nur dann, wenn die übrigen Kontrollversuche den richtigen Ablauf der Reaktion gewährleisten.

Die Reaktion ist als eine negative zu bezeichnen, wenn die Hämolyse auch im Hauptversuch komplett ist; sie ist zweifelhaft, wenn die Hämolyse inkomplett ist. Immerhin kann bei einem gut geleiteten Versuch eine nur schwach rote Färbung der Flüssigkeit als positive Reaktion gedeutet werden, und umgekehrt wird das Vorhandensein weniger Reste von Erythrozyten einer negativen Reaktion gleichkommen. (Siehe die Abbildungen im neunten Kapitel über die Wassermannsche Reaktion.)

Die Reaktion von Bordet und Gengou ist zwar auf die Ermittlung von Antigenen und Antikörpern überhaupt anwendbar und auch schon angewendet worden, hat aber doch nur in einigen Fällen so deutliche und beweisende Resultate ergeben, daß man sie als praktischen, allgemein zugänglichen diagnostischen Behelf benützen konnte. So bildet bei der Echinokokkose, wie Ghedini und Weinberg gefunden haben, gerade die Komplementbindungsmethode oft eines der besten, unschädlichsten und einfachsten diagnostischen Hilfsmittel: sie fällt nämlich bei dieser Krankheit in einem großen Prozentsatz

Bedeutung bei der Echinokokkose.

der Fälle positiv aus, ist unabhängig von Größe und Sitz der Zysten und selbst bei vereiterten Zysten vorhanden. Im Blutserum Echinokokkuskranker findet man spezifische Antikörper, die sich weniger gut zur Untersuchung mittels der Präzipitationsmethode eignen, aber durch das Phänomen der Komplementbindung in Gegenwart ihres spezifischen Antigens deutlich erkennbar werden.

Serodiagnose bei Rotz.

In ähnlicher Weise zeigt auch das Serum rotzkranker Pferde in Gegenwart von Rotzantigen, eine spezifische antikomplementäre Wirkung, so daß die Komplementbindung bei der Diagnose der Rotzkrankheit ein serodiagnostisches Verfahren darstellt, das ebensowenig zu vernachlässigen ist, wie die Agglutination und Präzipitinreaktion und sehr gut zur Bestätigung der Ergebnisse der Malleinreaktion dienen kann. Sie hat vor der Malleinisierung den Vorzug, daß sie keine Anforderungen an den Tierarzt stellt; denn es genügt, durch einen kleinen Aderlaß wenige Kubikzentimeter Blut zu entnehmen und an ein Laboratorium einzusenden, wo die Bordet-Gengousche Reaktion ausgeführt werden kann.

Bei den Reaktionen zwischen Antikörpern und bakteriellen Antigenen hemmen hohe Dosen der letzteren, wie sie im Schema für die Echinokokkose angegeben sind, schon an und für sich die Hämolyse. Man muß daher bei den Vorversuchen geringere Mengen nehmen, um für jeden Fall die Dosis zu finden, die an sich noch keine Ablenkung verursacht: in diesen Fällen geht man nach dem folgenden Schema vor:

a) Auswertung der antikomplementären Wirkung des Antikörpers allein.

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvetten	Antikörper: zu untersuchendes Serum	Komplement	Physiologische NaCl-Lösung	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	5%ige Erythrozytenaufschwemmung	Ambozeptor auf die Hälfte des Titers verdünnt	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	Resultate
1	0·4	1 Einheit	soviel, daß die Menge 2 cm^3 beträgt		1 cm^3	1 cm^3 enthält 2 I.-E.		unvollständige Hämolyse
2	0·2	"	"		"	"		vollständige "
3	0·1	"	"		"	"		" "
4	0·05	"	"		"	"		" "

b) Auswertung der antikomplementären Wirkung des Antigens allein.

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvetten	Antigenaufschwemmung oder Extrakt aus Bakterien, der hergestellt wird, indem man pro Agarkultur 10 cm^3 karbolisierte NaCl-Lösung nimmt	Komplement	Physiologische NaCl-Lösung		5% ige Erythrozytenaufschwemmung	Ambozeptor, auf die Hälfte des Titers verdünnt		Resultate
1	0·1	1 Einheit	soviel, daß die Menge 2 cm^3 beträgt	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	1 cm^3	1 cm^3 enthält 2 I.-E.	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	keine Hämolyse
2	0·05	„	„		„	„		„ „
3	0·01	„	„		„	„		unvollständige Hämolyse
4	0·005	„	„		„	„		vollständige „
5	0·001	„	„		„	„		„ „
6	0·0005	„	„		„	„		„ „

Anordnung des Hauptversuchs bei der Serodiagnose des Rotzes.

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvetten	Verdächtiges Serum bei 60° statt bei 56° inaktiviert	Antigen	Komplement, auf 1 : 10 verdünnt	Physiologische NaCl-Lösung		5% ige Erythrozytenaufschwemmung	Ambozeptor, auf die Hälfte d. Titers verdünnt		Resultate
1	0·2	0·005	1 Einheit	soviel, daß die Menge 2 cm^3 beträgt	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	1 cm^3	1 cm^3 enthält 2 I.-E.	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	keine Hämolyse
2	0·1	0·005	„	„		„	„		„ „
3	0·05	0·005	„	„		„	„		unvollständige „
4	0·01	0·005	„	„		„	„		vollständige „
5	0·1 Serum von einem sicher rotzkranken Pferd	0·005	„	„		„	„		keine „
6	0·2 normales Pferdeserum	0·005	„	„		„	„		vollständige „

Beim angeführten Beispiel ist die Dosis, die nicht an sich die Hämolyse hemmt, 0·2 für den Antikörper, 0·005 für das Antigen; ist man im Zweifel, ob nicht durch das Zusammentreffen zweier antikomplementärer Vermögen eine nicht spezifische Hemmung eintreten könnte, so nimmt man gewöhnlich die Hälfte der höchsten Antigendosis, die nicht an sich die Hämolyse hemmt, in unserem Fall 0·025. So z. B. beim Rotz: hat man bei den Vorversuchen festgestellt, daß 0·2 Pferdeserum eine vollständige Hämolyse gibt und 0·005 die Optimumdosis des Antigens ist, so werden die Hauptversuche ausgeführt, indem man fallende Mengen des zur Zerstörung der antikomplementären Wirkung des Pferdeserums bei 60° statt bei 56° inaktivierten Serums dem Antigen zusetzt; in einem Kontrollröhrchen gibt man normales Serum zu, in einem andern Serum, das sicher von einem Rotzfall stammt, zur Nachprüfung des hämolytischen Systems, um sich zu überzeugen, daß unter den angewandten Versuchs-

bedingungen das Rotzserum eine positive, das Normalserum eine negative Reaktion gibt.

Der Extrakt aus Rotzmaterial wird hergestellt, indem man von Kulturen auf Glyzerinagar in physiologischer NaCl-Lösung, der man 0·5% Karbolsäure zugesetzt hat, im Verhältnis von 1·0 cm^3 pro Agarkultur aufschwemmt. Bevor man die Emulsion herstellt, werden die Bazillen abgetötet, indem man sie 2 Stunden hindurch bei 60° im Brutschrank oder im Wasserbad hält. Die Bazillenemulsion wird 4 Tage lang im Schüttelapparat geschüttelt und dann mittels einer Zentrifuge von 3000 Umdrehungen 1—2 Stunden lang zentrifugiert. Die erhaltene Flüssigkeit bildet den Bazillenextrakt, der sich einige Monate hält. Zur Ablenkungsreaktion verwendet man eine Verdünnung von 1% in physiologischer NaCl-Lösung.

Tritt in den Röhrchen 1—4 des Hauptversuches komplette Hämolyse ein, so ist die Reaktion bei dem zu untersuchenden Pferd negativ; fehlt die Hämolyse nur bei Nr. 1, so ist sie zweifelhaft, fehlt sie auch bei Nr. 2, so ist sie positiv, ebenso wenn bei Nr. 3 und 4 Hämolyse eintritt; fehlt sie auch dort, so handelt es sich um ganz besonders aktive Rotzsera.

Dem Ausfall der Komplementbindung kann jedoch bei Rotz kein absoluter Wert beigelegt werden, da die Probe ausnahmsweise mit Normalserum positiv und bei chronischen Fällen von Rotz zuweilen auch negativ ausfallen kann. Beim Deuten der Resultate ist zu beachten: daß das antikomplementäre Vermögen erst 12—14 Tage nach der Infektion im Serum auftritt und nicht vor 3 Wochen einen merklichen Grad erreicht; ferner daß es infolge der subkutanen Malleineinspritzung erhöht wird, weshalb in solchen Fällen die Probe auch bei gesunden Pferden häufig positiv ausfallen kann. Bei Fällen von frischer Infektion ist daher eine Wiederholung der Probe angezeigt und es empfiehlt sich, die zum Komplementablenkungsversuch nötige Blutmenge vor der Malleineinspritzung zu entnehmen.

Konglutinationsreaktion.

Zur Auffindung chronisch rotzkranker Pferde eignet sich die Konglutination gut, weil die Substanzen, die die Konglutination hemmen, länger im Blute erhalten bleiben als die agglutinierenden und komplementbindenden Stoffe. Sie hat gegenüber der Komplementbindung den Vorteil, daß sie mit einfacheren und billigeren Reagentien arbeitet. Die Methode beruht auf der Eigenschaft des inaktivierten Rinderserums, rote Hammelblutkörperchen in Gegenwart von aktivem Pferdeserum zu konglutinieren. Das Konglutinin des inaktivierten Rinderserums kann seine Wirkung nur ausüben, wenn es die roten Hammelblutkörperchen durch das Komplement des Pferdeserums auf dem Weg über den normalen Ambozeptor dieses letzteren gebunden vorfindet.

Ist das Komplement schon an das System: Rotzantigen und Rotzserum gebunden, so kann das Konglutinin nicht in Aktion treten; läßt man also eine halbe Stunde lang (wie bei der Komplementablenkungsprobe) ein inaktiviertes Pferderotzserum mit dem Extrakt der Rotzbazillen und dem Komplement (dargestellt durch das normale Pferdeserum) zusammenwirken und fügt dann anstatt des hämolytischen Systems rote Hammelblutkörperchen und Konglutinin hinzu, so tritt keine Konglutination ein, weil das Komplement von dem System Antigen + Antikörper angezogen wurde.

In den Fällen, wo ein nicht von einem Rotzfall stammendes Serum mit dem Rotzextrakt zusammengebracht wurde, bleibt das Komplement frei und bildet mit den roten Blutkörperchen und dem normalen Ambozeptor den Angriffspunkt für die Wirkung des Konglutinins.

Die Konglutinationsreaktion wird positiv ausfallen, wenn das fragliche Pferdeserum von einem nicht rotzkranken Pferde stammt und wird negativ sein, wenn es von einem rotzkranken Pferde stammt.

Die Methode wird mit großem Vorteil angewendet, wenn es sich um Serum von Maultieren und Eseln handelt, bei denen man die Ablenkungsreaktion wegen ihrer antikomplementären Wirkung nicht anwenden kann, weil das Komplement des frischen Pferdeserums nicht wie das vom Meerschweinchen durch das normale Serum dieser Tiere zerstört wird.

Technik der Konglutination.

Auswertung des Rinderserums.

Röhrchen	Frisches Pferdeserum	0·85% NaCl		Inaktiviertes Rinderserum			Befund
1	0·1	0·8	1 Stunde Wasserbad bei 40° C	0·1	3 Tropfen (0·15 cm) einer 5%igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung	4 Stunden Wasserbad bei 40° C, dann 4 Stunden Zimmertemperatur, dann Beurteilung	+
2	0·1	0·4		0·5 der Verdünnung 1:10			+
3	0·1	0·65		0·25 „ „ 1:10			+
4	0·1	0·8		0·1 „ „ 1:10			±
5	0·1	0·4		0·5 „ „ 1:100			±
6	0·1	0·65		0·25 „ „ 1:100			±
7	0·1	0·8		0·1 „ „ 1:100			—
8	0·1	0·9		—			—
9	—	0·9		0·1			—
10	—	1·0		—			—

NB. 0·025 wäre die kleinste vollständig konglutinierende Menge des Rinderserums. Die doppelte Menge, 0·05, d. h. 0·1 der Verdünnung 1:2 wird bei den folgenden Auswertungen und im Hauptversuche verwendet.

Konglutination.

Auswertung des frischen Pferdeserums.

Röhrchen	Frisches Pferdeserum	0·85% NaCl		Inaktiviertes Rinderserum	Blutkörperchen		Befund
1	0·1		1 Stunde Wasserbad bei 40° C	0·1 cm^3 der Verdünnung 1:2	3 Tropfen 5%ige Hammelblutkörperchen-aufschwemmung	4 Stunden Wasserbad bei 40° C, dann 4 Stunden Zimmertemperatur	Konglutination, vollständig
2	0·9 der Verdünnung 1:10						„ „
3	0·8 „ „ 1:10						„ „
4	0·7 „ „ 1:10						„ , inkomplett
5	0·6 „ „ 1:10						„ „
6	0·5 „ „ 1:10						„ „
7	0·4 „ „ 1:10						„ „
8	0·3 „ „ 1:10						„ „
9	0·2 „ „ 1:10						„ „
10	0·1 „ „ 1:10						„ , negativ
11	0·1 rein	0·9		—			„ „
12	—	0·9		0·1 der Verd. 1:2			„ „
13	0·1 rein	0·95		0·05 der Verd. 1:2			„ , komplett
14	—	1 cm^3		—			„ , negativ

NB. 0·08 ist die kleinste zur vollständigen Konglutination ausreichende Pferdeserummenge; das Pferdeserum eines und desselben Pferdes kann in der einmal ausgewerteten Menge weiterhin immer verwendet werden.

Auswertung der Hammelblutkörperchen.

Röhrchen	Frisches Pferdeserum	0·85% NaCl		Rinderserum	Hammelblutkörperchen-aufschwemmung		Befund
1	0·8 der Verdünnung 1:10 d. i. ausgewertete Titerdosis	0·1	1 Stunde Wasserbad bei 40° C	0·1 cm^3 der Verdünnung 1:2 d. i. ausgewertete Titerdosis	4 Tropf. einer 10%igen	1 Stunde Wasserbad bei 40° C, dann 4 Stunden Zimmertemperatur	
2		0·1			3 „ „ 10% „		
3		0·1			4 „ „ 5% „		
4		0·1			3 „ „ 5% „		
5		0·1			2 „ „ 5% „		
6		0·1			1 „ „ 5% „		
7		0·1			4 „ „ 2% „		
8		0·1			3 „ „ 2% „		
9		0·1			2 „ „ 2% „		
10		0·1			1 „ „ 2% „		

NB. Von der Hammelblutkörperchenaufschwemmung werden drei Tropfen einer 5%igen Verdünnung verwendet, d. i. die größte Menge, die bei obiger Auswertung vollständig hämolysiert wird.

Auswertung des Rotzbakterienextraktes

mit 0·1 cm^3 Serum eines rotzigen und eines gesunden Pferdes.

Röhrchen	Inaktiviertes Normalpferdeserum oder rotziges	0·85% NaCl	Kochextrakt 1:100	frisches Pferdeserum		Inaktiviertes Rinderserum	Blut	
1	—	—	0·4	z. B. 0·4 der Verdünnung 1 : 5	1 Stunde Wasserbad bei 40° C	z. B. 0·1 der Verdünnung 1 . 2	3 Tropfen 5%ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung	4 Stunden H_2O-Bad, 4 Stunden Zimmertemperatur
2	0·1 cm^3	0·2	0·2					
3		0·3	0·1					
4		0·35	0·05					
5		0·37	0·03					
6		0·39	0·01					
7		0·395	0·005					
8		0·4	—					

NB. Verwendet wird diejenige Rotzextraktmenge, bei der das Normalpferdeserum vollständige Konglutination, das rotzige hingegen Hemmung derselben ergibt; der Extrakt wird derart verdünnt, daß die entsprechende Menge in 1 cm^3 enthalten ist.

Hauptversuch der Konglutination.

Konglutination.

Röhrchen	Inaktiviertes fragliches Serum	0·85% NaCl	Extrakt (verdünnt)	frisches Pferdeserum		Inaktiviertes Rinderserum	Blutkörperchen		Befund rotzig	Befund gesund
1	0·1	0·3	1 cm^3	z. B. 0·4 der Verdünnung 1:5	1 Stunde Wasserbad bei 40° C	z. B. 0·1 der Verdünnung 1:2	3 Tropfen 5%ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung	4 Stunden Wasserbad bei 40° C, dann 4 Stunden Zimmertemperatur	Hemmung	Konglut.
2	0·08	0·32							„	„
3	0·05	0·35							„	„
4	0·03	0·37							„	„
5	0 01	0·39							„	„
6	0·1	0·4	—						Konglut.	„

Röhrchen	notorisch rotzig	normal	0·85% NaCl	Extrakt (verdünnt)	frisches Pferdeserum		Inaktiviertes Rinderserum	Blutkörperchen		Befund
1	0·1	—	0·3	1 cm^3	z. B. 0·4 der Verdünnung 1:5	1 Stunde Wasserbad bei 40° C	z. B. 0·1 der Verdünnung 1:2	3 Tropfen 5%ige Schafblutkörperchenaufschwemmung	4 Stunden Wasserbad bei 40° C, dann 4 Stunden Zimmertemperatur	Hemmung
2	0·1	—	0·4	—						Konglutination
3	—	0·1	0·3	1 cm^3						„
4	—	0·1	0·4	—						„
5	—	—	0·4	1 cm^3						„
6	—	—	0 3	2 cm^3						„
7	—	—	0·5	—						„
8	—	—	0·6	—			—			Hemmung
9	—	—	0 9	—	—		0·1			„
10	—	—	0·95	—	—		0·05			„
11	—	—	1·0	—	—		—			„

Hämo-agglutination.

Als Indikator der stattgehabten Komplementbindung kann beim Rotz außer der Konglutination auch die Hämoagglutination dienen. Sie beruht auf der Eigenschaft des inaktivierten Rinderserums, rote Meerschweinchenblutkörperchen in Gegenwart von nicht inaktiviertem Pferdeserum aufzulösen, sie aber zu agglutinieren, wenn das im Pferdeserum enthaltene Komplement fehlt. Wenn also das Komplement des Pferdeserums in Gegenwart von Rotzantikörper und Antigen von diesen letzteren festgehalten wird, so wird das inaktivierte Rinderserum die roten Meerschweinchenblutkörperchen agglutinieren; die Hämoagglutination verrät somit die Rotzinfektion, die Hämolyse schließt sie aus wie bei der Komplementbindungsreaktion.

Auswertung des Rinderserums.

K. H. Reaktion.

Frisches Pferdeserum	Inaktiviertes Rinderserum in Verdünnung 1 : 10								Frisches Pferdeserum
1 : 10	1·0	0·8	0·7	0·6	0·5	0·4	0·3	0·2	1 : 10 allein
0·5	+++	+++	±	—	—	—	—	—	Keine Hämolyse
0·7	+++	+++	+++	±	—	—	—	—	„ „
0·8	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	„ „
0·9	+++	+++	+++	+++	±	—	—	—	„ „
1·0	+++	+++	+++	+++	±	—	—	—	„ „
1·1	+++	+++	+++	+++	+++	±	—	—	„ „
1·2	+++	+++	+++	+++	+++	±	±	±	„ „
1·4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Inkompl. Hämolyse
1·6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Hämolyse

Zeichenerklärung: — Keine Hämolyse.
+++ Komplette Hämolyse.

NB. 0·05 kleinste lösende Menge des Rinderserums. Im Versuch wird die doppelte oder dreifache Menge genommen, also 1 cm^3 der 10- bis 15%igen Verdünnung.

Jedes Röhrchen wird mit 0·85%iger NaCl-Lösung auf 4 cm^3 aufgefüllt; hiezu dann 0·15 oder 0·2 einer 2%igen Meerschweinchenblutkörperchen-Aufschwemmung; das Ganze 20 Minuten im Wasserbade bei 40° C; Beurteilung am besten 2 Stunden nachher.

Auswertung des frischen Pferdeserums.

Röhrchen	Frisches Pferdeserum 1 : 10	0·85% NaCl		Inaktiviertes Rinderserum 15%	Meerschweinchenblutkörperchen		Befund
1	0·4	2·6	20 Min. Wasserbad bei 40° C	1 cm^3 einer 15%igen Verdünnung	0·2 oder 0·15 einer 2%igen Meerschweinchenblutkörperchenaufschwemmung	20 Min. Wasserbad bei 40° C	
2	0·5	2·5					
3	0·6	2·4					
4	0·7	2·3					
5	0·8	2·2					
6	0·9	2·1					
7	1·0	2					
8	1·1	1·9					
9	1·2	1·8					
10	—	3					
11	—	4		—			

NB. Das frische Pferdeserum wird bei der folgenden Auswertung und im Hauptversuch in jener Dosis verwendet, die hier zur kompletten Hämolyse genügte, z. B. 0·9, d. i. 9%.

Rotzbakterienextrakt-Auswertung mit notorisch rotzigem und normalem Pferdeserum.

Röhrchen	Inaktiviertes Pferdeserum notorisch rotzig u. normal	0·85% NaCl	Extrakt	Frisches Pferdeserum 9%		Inaktiviertes Rinderserum 15%	Blutkörperchenaufschwemmung		Befund
1	0·2		0·4	1 cm^3	20 Minuten Wasserbad bei 40° C	1 cm^3	0·2 oder 0·15 einer 2%igen Meerschweinchenblutkörperchenaufschwemmung	20 Minuten Wasserbad bei 40° C	Hemmung
2	0·2		0·2						"
3	0·2		0·1						Kompl. Hemmung
4	0·2		0·08						Hemmung
5	0·2		0·05						Hämolyse
6	0·2		0·03						"
7	0·2		0·01						"
8	0·2		0·005						"
9	0·2	1·8	—						"

NB. Verwendet wird diejenige Rotzextraktmenge, bei der das rotzige Serum komplett hemmt, das normale komplett löst; man verdünnt den Extrakt derart, daß die Menge in 1 cm^3 enthalten ist.

Hauptversuch.

Röhrchen	Fragliches inaktiviertes Pferdeserum	0·85% NaCl	Rotzbazillenextrakt (verdünnt)	Frisches Pferdeserum	Wasserbad	Inaktiviertes Rinderserum	Meerschweinchenblutkörperchen	Wasserbad	Befund rotzig	Befund gesund
1	0·2	0·8			20 Minuten Wasserbad bei 40° C		0·2 oder	20 Minuten H_2O-Bad bei 40° C	Hemmung	Hämolyse
2	0·1	0·9					0·15 einer		"	"
3	0·05	0·95	1 *cm*³	1 *cm*³		1 *cm*³	2%igen		"	"
4	0·02	0·98		9%		15%	Auf-		"	"
5	0·01	0·99					schwem-		"	"
6	0·2	0·8	—				mung		Hämolyse	"

Röhrchen	Inaktiviertes notorisch rotzig	Inaktiviertes normal	0·85% NaCl	Rotzbazillenextrakt (verdünnt)	Frisches Pferdeserum	Wasserbad	Inaktiviertes Rinderserum	Meerschweinchenblutkörperchen	Wasserbad	Befund
1	0·2	—	0·8	1 *cm*³		20 Minuten H_2O-Bad bei 40° C			20 Minuten Wasserbad bei 40° C	Hemmung
2	0·2	—	1·8	—						Hämolyse
3	—	0·2	0·8	1 *cm*³				0·2 oder		"
4	—	0·2	1·8	—				0·15 einer		"
5	—	—	1·0	1 *cm*³	1 *cm*³		1 *cm*³	2%igen		"
6	—	—	2·0	—	9%		15%	Auf-		"
7	—	—	3·0	—	--		—	schwem-		Hemmung
8	—	—	3·0	—				mung		"
9	—	—	4·0	—	—		—			"

Komplementablenkende Substanzen findet man in größeren Mengen im Serum künstlich immunisierter Pferde und sie können dort als Maßstab ihrer Aktivität dienen. Es ist nämlich oft unmöglich, diese Sera auszuwerten, weil die Resultate der antitoxischen oder antiinfektiven Versuche bei den Tieren gar zu sprunghaft und unverläßlich sind; man sucht also hier statt des neutralisierenden Antikörpers lieber andere antagonistische Substanzen, z. B. die spezifischen bindenden auf, ausgehend von der Annahme, daß zwischen diesen letzteren ein gewisser Parallelismus bestehe.

Aufsuchen ablenkender Substanzen.

Die Unmöglichkeit, z. B. beim Meningokokkenserum regelmäßige Serien bei der Auswertung an Meerschweinchen und Mäusen zu erhalten, führte dazu, seine Wirksamkeit mittels der Komplementbindungsprobe zu dosieren. Obwohl auch hier manche Unregelmäßigkeiten, die auf die geringe Konstanz der aus Meningokokkenaufschwemmungen bestehenden Antigene zurückzuführen sind, zuweilen den Ablauf der Reaktionen stören, ist diese doch in der Praxis neben der Aufsuchung des Präzipitins das beste Mittel zur Bewertung des Serums. Die Hemmung der Hämolyse bei Dosen von 0·01—0·005 und auch 0·001 des

a) Auswertung des Meningokokkenserums.

Serums ist im allgemeinen ein genügender Beweis für seine Zulässigkeit zu therapeutischen Zwecken. Auf Grund der günstigen Resultate, die diese Bewertungsmethode beim Meningokokkenserum gezeitigt hat, ist derselbe Weg auch bei anderen Seris eingeschlagen worden, so z. B. beim Gonokokkenserum, das viel Ähnlichkeit mit dem Meningokokkenserum zeigt.

Hat man z. B. festgestellt, daß die Optimaldosis des Antigens — Meningokokkenextrakt, den man herstellt, indem man die Aufschwemmung in physiologischer NaCl-Lösung 24—48 Stunden lang im Schüttelapparat schüttelt, dann 0·5%ige Karbolsäure zusetzt und zentrifugiert — 0·25 beträgt, so wird das Serum nach folgendem Schema ausgewertet:

Fortlaufende Bezeichnung der Röhrchen	Inaktivierter Antikörper: (Meningokokkenserum)	Antigen: (Meningokokkenextrakt)	Komplement 1:10	Physiologische NaCl-Lösung		5%ige rote Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung	Ambozeptor auf die Hälfte des Titers verdünnt	Resultate
1	0·1	0·25	1 Einheit	so viel, daß die Menge 2 cm³ beträgt	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	1 cm³	1 cm³ enthält 2 hämolytische Einheiten	keine Hämolyse
2	0·05	„	„	„		„	„	„ „
3	0·01	„	„	„		„	„	„ „
4	0·005	„	„	„		„	„	„ „
5	0·001	„	„	„		„	„	fast keine Hämolyse
6	0·0005	„	„	„		„	„	unvollständige Hämolyse
7	0·0001	„	„	„		„	„	vollständige Hämolyse
	Normales Pferdeserum							
8	0·1	„	„	„		„	„	„

b) bei der Beschälseuche.

Die Bindung des Komplements hat auch bei der Diagnose der Trypanosomeninfektion eine gewisse Bedeutung errungen, besonders in Gegenden, wo nur eine dieser Protozoenerkrankungen vorherrscht. In den Vereinigten Staaten z. B. wird diese Methode erfolgreich zur Bekämpfung der Beschälseuche der Pferde angewendet, da sie zur Auffindung der mit aktiven und sogar auch der mit latenten Formen behafteten Tiere verhilft.

Die Technik des serologischen Versuchs ist bei der Beschälseuche ziemlich genau dieselbe wie beim Rotz. Nach einer Reihe von Mißerfolgen, die durch Antigene aus Organen an Beschälseuche verendeter Tiere hervorgerufen waren, kam man auf die Idee, das streng spezifische Antigen (mit Beschälseuche infizierte

Organe) durch ein bloß verwandtes Antigen (mit Surra infizierte Organe) zu ersetzen; tatsächlich ist der heutzutage mit größtem Erfolg verwendete Extrakt eine Suspension aus der Milz von an experimenteller Surrakrankheit verendeten Ratten.

Das Antigen wird hergestellt, indem man die Milz in einem Mörser mit wenig physiologischer Kochsalzlösung zerreibt, bis sie zu einem Brei geworden ist; dann setzt man nach und nach noch physiologische NaCl-Lösung zu und filtriert die so erhaltene Aufschwemmung zweimal durch Gaze in ein Röhrchen; dann verdünnt man sie mit physiologischer NaCl-Lösung auf 40 cm^3. Die Auswertung des Antigens geschieht nach folgendem Schema, indem man es bei verhältnismäßig steigenden Dosen mit sicher positivem Serum (von an Beschälseuche erkrankten Pferden) und sicher negativem Serum (von normalen Pferden) zusammenbringt.

Auswertung des Antigens bei Beschälseuche.

a) mit positivem Serum			b) mit negativem Serum		
positives, inaktiviertes Serum	Antigen	Komplement wie gewöhnlich usw.	negatives, inaktiviertes Serum	Antigen	Komplement wie gewöhnlich usw.
1.) 0·15	0·05		7.) 0·15	0·05	
2.) 0·15	0·1		8.) 0·15	0·1	
3.) 0·15	0·15		9.) 0·15	0·15	
4.) 0·15	0·2		10.) 0·15	0·2	
5.) 0·15	0·25		11.) 0·15	0·25	
6.) 0·15	0·3		12.) 0·15	0·3	

Der Titer des Antigens, d. h. die anzuwendende Menge, beträgt die Hälfte der Maximaldosis, die mit dem Normalserum noch eine vollständige Hämolyse ergibt und ist zumindest das Doppelte der Dosis, die zur vollständigen Ablenkung mit positivem Serum notwendig ist. Zeigen z. B. die Versuche 7.), 8.), 9.) und 10.) vollständige Hämolyse und 11.) und 12.) eine schwache Ablenkung, und zur gleichen Zeit die Versuche Nr. 6.), 5.), 4.), 3.) und 2.) vollständige Ablenkung, und Nr. 1.) teilweise Ablenkung, so beläuft sich die bei den fraglichen Seris anzuwendende Menge an Antigen auf 0·2 cm^3.

Die zu untersuchenden Sera werden unterschiedslos in einer Dosis von 0·15 cm^3 ausprobiert, weil die Ablenkungsreaktion bei dieser Menge nur bei mit Beschälseuche behafteten Pferden positiv ausfällt; aber es genügen in vielen Fällen geringere Dosen, bis zu 0·02 cm^3 Serum, um eine vollständige Ablenkung zu erzielen.

c) bei seuchenhaftem Verwerfen.

Im Sinne einer Infektionsreaktion hat die Komplementbindung auch bei der Diagnose des seuchenhaften Verwerfens brauchbare Resultate gezeitigt: positive Resultate erhielt man in Gegenwart eines geeigneten Antigens nicht nur mit dem Serum (0·01 – 0·001) von Kühen, welche verworfen hatten, sondern, sogar noch deutlicher, mit dem Serum noch tragender, bereits

infizierter Kühe. Bei Übereinstimmung der Probe mit dem Ausfall des Agglutinationsversuches können die infizierten Kühe erkannt und rechtzeitig die nötigen Maßregeln getroffen werden. Dieselben biologischen Reaktionen, deren positiver Ausfall bei Rotz leider die Notschlachtung des infizierten Tieres zur Ausrottung des Infektionsherdes erheischt, werden beim seuchenhaften Verwerfen der Landwirtschaft zu äußerst nützlichen Hilfsmitteln.

d) bei Trichinose.

Die bei den parasitären Formen, bei den Helminthenkrankheiten beobachteten positiven Reaktionen sind bisher von der Hygiene nicht ausgenützt worden; doch wird ihr prophylaktischer Wert z. B. bei Bekämpfung der Trichinose sicher anerkannt werden, sobald die praktische Tragweite der Methode sich die ihr gebührende Geltung verschafft haben wird.

e) bei immunen Tieren.

Interessant sind in dieser Hinsicht die bei Pferdepest und Küstenfieber angestellten Versuche, welche der Komplementablenkung praktischen Wert beim Aufsuchen jener Tiere verleiht, die die Infektion bereits überstanden haben, also immun und daher für den Transport in die infizierten Zonen besonders geeignet sind.

f) bei Bazillenträgern.

Von den anderen Anwendungen, die die Reaktion bei verschiedenen Problemen gefunden hat, will ich nur ihre Bedeutung zur Auffindung von spezifischen bindenden Substanzen erwähnen, die sich im Serum der Typhusbazillenträger vorfinden, weil sie dazu dienen kann, diese in solchen Fällen nachzuweisen, wo die Agglutinationsprobe negativ bleibt.

Nachweis von Antigenen.

Auch beim Nachweis der Antigene mittels der betreffenden Immunsera hat sich die Komplementbindung als ein empfindliches Diagnosemittel bewährt, das zuweilen bei der Fleischbeschau neben den Koagulationsreaktionen unerläßlich ist. Die Probe leistet in der Tat sehr gute Dienste, wenn es gilt, Fleischverfälschungen zu entdecken, denn sie ist imstande, den Zusatz geringer Mengen Pferdefleisch, auch nach dem Kochen, nachzuweisen. Ebenso gelingt es mit ihrer Hilfe, bei Intoxikationen oder Vergiftungen die in Betracht kommenden Keime zu identifizieren.

In der gerichtlichen Medizin.

In der gerichtlichen Medizin wird die Komplementbindungsmethode neben der Präzipitationsreaktion zur Kontrolle und Bestätigung des Uhlenhuthschen Verfahrens ausgeübt.

Zur Untersuchung eines Blutfleckes muß man vor allem das Antiserum für Menschenblut auswerten, indem man fallende Dosen

davon mit 0·0001 Menschenserum (0·2 *cm*³ einer Verdünnung 1:2000) zusammenbringt, um die Optimaldosis des Antiserums herauszufinden, die man mit dem Extrakt des verdächtigen Fleckes zur Reaktion bringen will, da zuweilen hohe Dosen eine schwache Hämolyse zeigen. Die Aufstellung dieser Auswertung ist folgende:

Auswertung des Antiserums für den Uhlenhuthschen Versuch.

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvette	Antikörper Antiserum für Menschenblut	Antigen Menschenserum	Komplement 1 : 10	Physiologische NaCl-Lösung	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	5%ige rote Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Ambozeptor auf die Hälfte des Titers verdünnt	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	Resultat
1	0·1	0·0001 (0·2 *cm*³ einer Verdünnung 1 : 2000)	1 Einheit	soviel, daß die Menge 2 *cm*³ beträgt		1 *cm*³	1 *cm*³ enthaltend 2 I.-E.		Spuren von Hämolyse
2	0·05	„	„	„		„	„		keine Hämolyse
3	0·25	„	„	„		„	„		„ „
4	0·01	„	„	„		„	„		Spuren von Hämolyse
5	0·1	—	„	„		„	„		vollständige Hämolyse

Die Testdosis, d. h. diejenige Menge an Antiserum, die zur vollständigen Ablenkung ausreicht, beträgt in diesem Fall zwischen 0·025 und 0·01 des Antiserums. Diese Dosis wird zur Reaktion mit dem Antigen benützt, das man aus der Auflösung des fraglichen Blutfleckes (der wie zur Präzipitationsprobe verdünnt wird, bis es ungefähr 1:1000 Eiweiß enthält) herstellt und in gleicher Weise zur Kontrolle auch mit gleichen Verdünnungen aus verschiedenen Blutflecken, die bestimmt von Menschen, Rindern oder Schweinen stammen: überdies werden auch alle gewöhnlichen Kontrollversuche der Ablenkungsreaktion durchgeführt.

Schema für die Hauptversuche.

Menge des Antiserums	Extrakt aus den fraglichen Flecken und Kontrollextrakt, verdünnt wie bei der Präzipitationsprobe	Komplement usw. wie gewöhnlich	Resultat
1.) 0·02	1 *cm*³ des fraglichen Fleckes		keine Hämolyse, wenn es sich um Menschenblut handelt; vollständige Hämolyse, wenn es sich nicht um Menschenblut handelt
2.) 0·02	1 *cm*³ eines Blutfleckes, der sicher vom Menschen stammt		keine Hämolyse
3.) 0·02	1 *cm*³ eines Rinderblutfleckes		vollständige Hämolyse
4.) 0·02	1 *cm*³ eines Schweineblutfleckes		vollständige Hämolyse

Auswertung des Malleins.

Vor kurzem ist die Ablenkungsreaktion als quantitative Auswertungsmethode für das Mallein vorgeschlagen worden. Wie wir später sehen werden, werden die löslichen Proteine des Rotzbazillus, entsprechend konzentriert, regelmäßig in den Gestüten zur Konstatierung einer aktiven Rotzinfektion verwendet, ähnlich der Anwendung des Tuberkulins bei der Diagnose der Tuberkulose. Die Malleinprobe fand eine besonders verbreitete Anwendung, als bei der Mobilisierung die Gefahr der Verbreitung des Rotzes anwuchs; deswegen drängte sich das Problem, eine Methode zur Bemessung der Stärke eines Malleins zu finden, mehr als früher in den Vordergrund. Die Ablenkung scheint unter allen vorgeschlagenen Methoden die aussichtsreichste zu sein; man mißt damit den Wert eines Malleins, indem man dessen Vermögen ausprobiert, die Hämolyse in Gegenwart eines sicheren Rotzserums zu hemmen.

In der Praxis wird der Versuch nach den gewöhnlichen Vorschriften für die Ablenkungsprobe ausgeführt. Kennt man die Einheit des Komplements und des hämolytischen Serums und das Verhalten des Rotzserums (Testserums) gegenüber dem Rotzantigen (= Mallein), d. h. weiß man, ob es die Hämolyse hemmt, so untersucht man, wie sich das Testserum in der Dosis 0·1 gegen verschiedene Mengen des fraglichen Malleins verhält (0·0001 – 0·0005 — 0·001 – 0·0025 – 0·005 — 0·0075 — 0·01 bei rohem flüssigem Mallein; 0·01 – 0·03 — 0·04 — 0·05 – 0·075 — 0·1 einer Lösung von 0·03 in 20 cm^3 physiologischer NaCl-Lösung bei trockenem Mallein). Die kleinste Menge, die imstande ist, die Hämolyse vollständig zu hemmen (welche sich bei flüssigem Mallein um 0·005 und bei trockenem um 0·05 betragen wird), ist die Maßeinheit. Gewöhnlich enthält daher ein rohes Mallein ungefähr 200 Einheiten pro cm^3 und es sind 100 Einheiten in 0·03 *g* trockenem Mallein enthalten.

Schema zur Auswertung eines rohen flüssigen Malleins.

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvette	Antikörper inaktiviertes Rotzserum	Antigen (Mallein)	Komplement 1 : 10	Physiologische NaCl-Lösung	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	5%ige rote Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Ambozeptor. auf die Hälfte des Titers verdünnt	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	Resultate
1	0·1	0·01	1 Einheit	soviel, daß die gesamte Menge 2 cm^3 beträgt		1 cm^3	1 cm^3 enthaltend 2 Einheiten		keine Hämolyse
2	„	0·0075	„	„		„	„		„ „
3	„	0·005	„	„		„	„		„ „
4	„	0·0025	„	„		„	„		unvollständige Hämolyse
5	„	0·001	„	„		„	„		vollständige Hämolyse
6	„	0·0005	„	„		„	„		„ „
7	„	0·0001	„	„		„	„		„ „

Beim Tuberkulin braucht man diesen indirekten Weg der Wertbemessung nicht einzuschlagen, weil man die Aktivität seiner biologischen Wirkung an experimentell infizierten Meerschweinchen beobachten kann. Man hat jedoch versucht, die verschiedenen Tuberkuline auf diese Weise voneinander zu unterscheiden, daß man sie als Antigen auf das Serum Tuberkulöser mittels der Ablenkungsreaktion einwirken läßt; es gelang aber nicht, einen Unterschied zwischen dem menschlichen und dem Rindertuberkulin festzustellen.

Krebsdiagnose nach v. Dungern.

v. Dungern hat versucht, das Komplementablenkungsverfahren zur Diagnose des Krebses zu verwerten und ist der Ansicht, eine Methode von praktischem Wert ausgearbeitet zu haben. Die ursprüngliche Technik wurde späterhin mehrfach modifiziert, hauptsächlich in der Absicht, haltbare Extrakte zu erzeugen und positive Reaktionen mit syphilitischen Seris auszuschließen; nach den jüngsten Vorschriften des Autors ist das Verfahren folgendes:

Man entnimmt einer Vene des Kranken einige Kubikzentimeter Blut und hält das daraus abgeschiedene Serum 1—2 Tage im Eisschrank. Vor dem Versuch erwärmt man das Serum eine halbe Stunde lang mit Natronlauge (2 Teile Natronlauge [$^1/_{50}$ N] und ein Teil Serum) auf 54⁰. Die Mischung wird in der Dosis von $^6/_{10}$ — $^3/_{10}$ — $^3/_{20}$ — $^3/_{40}$ — entsprechend $^2/_{10}$ — $^1/_{10}$ — $^1/_{20}$ — $^1/_{40}$ Serum —, angewendet und zu jeder Probe 1 cm^3 Meerschweinchenserum, auf 1 : 20 verdünnt, und die als entsprechend erkannte Dosis Blutextrakt ($^3/_{10}$) hinzugefügt. Man erhält den Blutextrakt, indem man an einem Paralytiker einen kleinen Aderlaß vornimmt und durch Zusatz von oxalsaurem Natron (pro 10 cm^3 Blut 1 : 10 einer 20%igen Lösung) die Gerinnung des Blutes verhindert; man wäscht es dreimal mit physiologischer NaCl-Lösung und zentrifugiert kräftig, um die roten Blutkörperchen vom Plasma zu trennen; dann stellt man eine möglichst dichte Emulsion her, die man wägt und der man 14 Teile reines Azeton (Merck) zusetzt; diese beläßt man 3 Tage bei Zimmertemperatur und schüttelt sie von Zeit zu Zeit; nach dieser Zeit filtriert man sie, läßt das Azeton bei 37⁰ im Thermostaten verdunsten und versetzt die Masse mit 1% 96%igem Alkohol. Vor dem Gebrauch mischt man den Extrakt langsam mit 0·8% physiologischer NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 4. Von dieser Verdünnung gibt man $^8/_{10}$ in jede der Eprouvetten, die Meerschweinchenkomplement und Krankenserum enthalten. Man schüttelt die Mischungen gut durch, läßt sie 3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und liest schließlich die Resultate ab. Bei normalen Seris tritt die Hämolyse gewöhnlich nach einer Stunde ein; bei Seris von Kranken, die nicht an malignen Tumoren leiden, bleibt die Hemmung der Hämolyse noch länger bestehen. Von der Verdünnung 1 : 10 angefangen, soll die Reaktion eine große spezifische Bedeutung für maligne Tumoren haben und eine Differentialdiagnose gegenüber der Tuberkulose und der Syphilis ermöglichen.

Neuntes Kapitel.

Serodiagnose der Syphilis.

Wassermannsche Reaktion. — Spezifität. — Theoretische Deutung. — Diagnostische Bedeutung. — Therapeutische Indikationen. — Technik. — Vorbereitung und Ausführung. — Durchführung der Reaktion. — Ablesen der Resultate. — Modifikation nach v. Dungern. — Konglutination. — Karvonensches Verfahren.

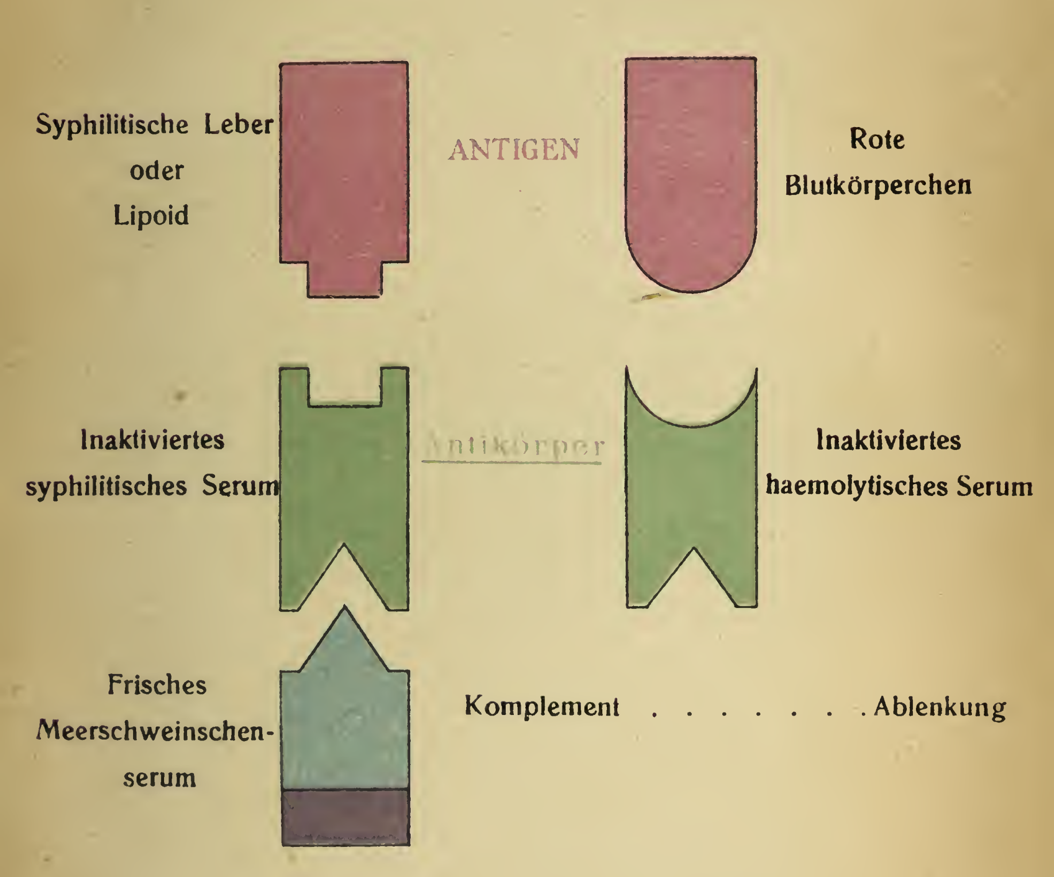
Wassermann.

Es ist unleugbar, daß die Komplementbindungsmethode zwar das verbreitetste Hilfsmittel zur Auffindung von Antigenen und Antikörpern bildet, wie ich Ihnen ja bereits an einigen Beispielen gezeigt habe, trotzdem aber wäre sie kaum aus dem beschränkten Umkreis der Laboratorien hervorgetreten, da die Schwierigkeiten theoretischer und praktischer Natur, mit denen sie verknüpft ist, wirklich nicht gering sind. Erst ihre Anwendung zur Diagnose der Syphilis hat aus der Bordet-Gengouschen Reaktion eine allgemein geübte klinische Methode gemacht, nachdem durch Moreschi die Aufmerksamkeit der deutschen Forscher auf die Komplementbindung gelenkt worden war.

Wassermann kam zuerst auf den Gedanken, daß im Serum Syphilitischer spezifische Antikörper vorhanden sein dürften, die imstande wären, das Komplement in Gegenwart syphilitischen Antigens zu binden; er versuchte also die Hemmung der Hämolyse, die voraussichtlich beim Zusammenbringen eines Extraktes einer syphilitischen Leber als Antigen mit syphilitischem Serum als Antikörper eintreten mußte, zu diagnostischen Zwecken auszunützen. (Tafel IV.)

Und tatsächlich entsprachen die Resultate seinen Erwartungen vollständig. Die Wassermannsche Reaktion bildet einen diagnostischen Behelf, der für Syphilis insofern spezifisch ist, als im allgemeinen nur die Sera Syphilitischer unter den

Wassermannsche Reaktion.



Resultat: Hemmung der Haemolyse.

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Verlag von J. Šafář in Wien u. Leipzig.



angegebenen Bedingungen die Ablenkung des Komplements verursachen.

Antigen?

Aber es erging Wassermann ähnlich wie Christoph Kolumbus. Dieser vermeinte ja bei der Entdeckung Amerikas Indien gefunden zu haben, jener glaubte einfach bei der Syphilis die Anwendung einer schon bei anderen Krankheiten bekannten Reaktion versucht zu haben. Man sah aber sehr bald, daß das aus Leberextrakt hereditär-syphilitischer Neugeborener bestehende Antigen, ohne die Spezifität der Reaktion wesentlich zu beeinträchtigen, durch Extrakte aus dem Herzen und anderen normalen Organen von Meerschweinchen oder Rindern, ja selbst durch Lezithin, Cholesterin oder andere lipoidartige Substanzen ersetzt werden kann, die offenbar gar nichts mit dem spezifischen Agens der Syphilis zu tun haben. Die Wassermannsche Reaktion deckt sich also vom theoretischen Standpunkt aus nicht mit der von Bordet und Gengou, weil man bei ihr nicht von wirklichen Antigenen und Antikörpern sprechen kann. Aber praktisch genommen, hat sie aus diesem Ersatz des Antigens nur Vorteil gezogen, weil man im Extrakt von Meerschweinchenherzen, der heute vielfach als Antigen verwendet wird, ein viel leichter zugängliches Antigen besitzt, als in den früher aus syphilitischen Lebern hergestellten Extrakten.

Die eigentliche Natur der Wassermannschen Reaktion ist bisher noch nicht definitiv geklärt, ungeachtet der zahlreichen Versuche, die sich mit diesem Problem näher befaßten.

Nach Levaditi, Yamonouchi u. a. m. soll das Blutserum und die Zerebrospinalflüssigkeit von Syphilitikern nicht eiweißartige oder auch eiweißartige Verbindungen im kolloiden Zustande enthalten, die in Gegenwart von Gallensalzen und Lipoiden der Leber ausgeflockt werden und so zur Komplementbindung führen. Beim Bestehen aktiver syphilitischer Prozesse erfährt das Serum wahrscheinlich eine Anreicherung an Lipoiden aus Zerstörungsprodukten der veränderten Gewebe; eine gleiche Zunahme an Substanzen derselben Natur kann bei Tabes und allgemeiner Paralyse in der Zerebrospinalflüssigkeit beobachtet werden. Ob es sich bei dem Zustandekommen der Wassermannschen Reaktion um einen chemischen oder einen physikalischen Prozeß handelt, oder ob nicht doch auch das syphilitische Antigen sekundär daran beteiligt ist, muß bis auf weiteres dahingestellt bleiben; soviel steht aber fest, daß es sich um

keine Immunitätsreaktion im eigentlichen Sinne des Wortes handelt und daß der Prozeß nicht auf der gewöhnlichen Zusammensetzung Antigen + Antikörper beruht.

Nach Bruck bestehen die ausschlaggebenden Faktoren der Probe aus der Reaktion der Mischung und aus der größeren Neigung zur Niederschlagsbildung, die sich bei den Globulinen des syphilitischen Serums vorfindet; es soll ein bedeutsamer Parallelismus zwischen positivem oder negativem Wassermann und größerer oder geringerer Präzipitierbarkeit der Globuline bestehen. Aber auch eine Abhängigkeit der Präzipitierbarkeit von der sauren Reaktion des Gemisches ist nachweisbar, in dem Sinne, daß eine Steigerung des Säuregehaltes die Präzipitation fördert, eine Verminderung hingegen sie hemmt. Dies zeigt nun, daß auch veränderliche chemische Eigenschaften wie der Säuregehalt den Ausgang einer Reaktion beeinflussen können und erklärt besser als alle Mängel der Technik die widersprechenden Resultate der Reaktion bei verschiedenen Forschern; nach Bruck genügt es, daß die Untersuchungen in verschiedenen Zeitabständen von der Blutentnahme ausgeführt werden, damit in der Zwischenzeit eine Ausflockung der Globuline eintreten und eine nach 1—2 Tagen positive Reaktion nach 4—5 Tagen in eine negative verwandelt werden kann.

Spezifität. Die Spezifität der Reaktion hat unter der Verwendung der verschiedenen Antigene nicht gelitten, insofern als die empfohlenen Antigene nur bei Vorhandensein syphilitischer Sera Hemmung der Hämolyse bewirken, diese aber bei normalen Seris gar nicht im geringsten stören. Wie immer auch die theoretische Deutung des Ausbleibens der Hämolyse sein mag, in der Praxis bildet diese Probe ein hervorragendes Hilfsmittel zur Stellung der Diagnose bei zweifelhaften Fällen. Ihr Wert wird auch durch die wenigen positiven Reaktionen bei gewiß nicht syphilitischen Krankheitsformen nicht verringert, weil in der Praxis fast nie ein einziges, wenn auch noch so feststehendes Moment ausreicht, um eine Diagnose zu sichern: ebenso genügt auch eine positive Wassermannsche Reaktion nicht, um die Diagnose Syphilis zu stellen, wenn spezifische, klinische oder anamnestische Anhaltspunkte fehlen, und schon gar nicht bei einem ganz andersartigen Krankheitsbild, wie z. B. der Lepra.

Man darf nämlich nicht vergessen, daß außer Syphilis noch andere Krankheitsformen verschiedenen Ursprungs auf die Wasser-

mannsche Reaktion reagieren können, wie: die Weilsche Krankheit, Framboesia, Trypanosomenkrankheiten, Ulcus tropicum, Jaws, Boubas, Rückfallfieber, Malaria und Scharlach; ganz selten wurden zweifelhaft positive Ausfälle — sogenannte Pseudoreaktionen — auch bei Lungentuberkulose, kruposer Pneumonie, Diabetes, bei bösartigen Geschwülsten, Psoriasis, Sklerodermie, erythematösem Lupus, Pellagra und Schwangerschaftseklampsie beobachtet, in neuester Zeit auch nach der Narkose und bei Bleivergiftung. Solche Fehlresultate genügen jedoch nicht, den klinischen Wert der Methode ernstlich zu beeinträchtigen, da es sich in den meisten Fällen um Ausnahmen handelt, und zwar bei Krankheiten, die ohnehin mit Leichtigkeit von der Syphilis zu unterscheiden sind. Nur bei Framboesia, Lepra und Scharlach werden deutlich positive Resultate mit einer gewissen Konstanz verzeichnet, doch ist die erstere in unserem Klima nicht anzutreffen, bei der zweiten werden mittels der bakterioskopischen Prüfung alle Zweifel beseitigt und der dritte weist eine so charakteristische klinische Symptomatologie auf, daß unabhängig von der Wassermannschen Reaktion die Diagnose mit Leichtigkeit zu sichern ist.

Diagnostische Bedeutung.

Auf Grund dieser Erwägungen werden wir vorsichtshalber niemals ohneweiters die Diagnose Syphilis bei einem Individuum stellen, das ohne deutliche klinische Symptome eine positive Wassermannsche Reaktion zeigt, sondern wir werden darin nur ein Verdachtsmoment erblicken, das den Anlaß zu weiteren Untersuchungen geben wird. Umgekehrt wird eine negative Reaktion nicht genügen, die Syphilis ohneweiters auszuschließen, wenn man Grund zu der Annahme hat, daß das Leiden besteht oder bestanden hat, weil man oft infolge energischer und fortgesetzter Kuren eine negative Reaktion findet. Auch ist zu bedenken, daß eine Unmenge kleiner Unterschiede in der Technik, viele ganz minimale Umstände, die auch den aufmerksamsten Experimentatoren entgehen können, den Ablauf dieser Reaktion zu stören vermögen.

Es wird z. B. angegeben, daß der Prozentsatz der positiven Reaktionen auch bei sicher syphilitischen Formen je nach dem Stadium und der Lokalisierung des Krankheitsprozesses wechselt. So schwankt, nach den Angaben der verschiedenen Forscher, im ersten Stadium der Krankheit die Zahl positiver Resultate zwischen 38·5 und 100%. Erst 5 Wochen nach der Infektion

treten die ersten noch undeutlichen positiven Reaktionen auf, die in der Folge, je mehr sich die Krankheit dem zweiten Stadium nähert, an Zahl und Intensität zunehmen. Im zweiten Stadium ist der Wassermann am häufigsten positiv, und zwar nicht nur mit dem Serum, sondern auch mit der Zerebrospinalflüssigkeit. Das dritte Stadium zeigt wieder eine Abnahme des Prozentsatzes der positiven Reaktionen. Es würde sich nach den Angaben der umfangreichen Literatur der Prozentsatz positiver Reaktionen in den verschiedenen Stadien der Syphilis ungefähr folgendermaßen verteilen:

Syphilis im ersten Stadium	38·5—100%
Syphilis im zweiten Stadium	70—100%
Syphilis im dritten Stadium	90—95%
Progressive Paralyse	90%
Tabes	70—80%

Bei Knochen- und Gehirnlues hat man besonders häufig negative Ergebnisse zu verzeichnen gehabt. Es ist ferner auch zu berücksichtigen, daß unter dem Einfluß einer spezifischen Quecksilber-, Jod- oder Arsenbehandlung die Wassermannsche Reaktion zum Schwinden gebracht wird, ein Befund, der nicht der Gegenwart dieser Arzneimittel im Organismus zuzuschreiben ist, da er in der Regel mit der Besserung der klinischen Symptome und mit der Heilung Hand in Hand geht, während er in Fällen ausbleibt, in denen der Krankheitsprozeß durch die Behandlung nicht günstig beeinflußt wird. In diesem Sinne ist auch die vorübergehende Verstärkung der Reaktion (paradoxe Reaktion) unmittelbar nach der Verabreichung hoher Quecksilber- oder Salvarsandosen bei an aktiven spezifischen Prozessen leidenden Individuen zu deuten.

Syphilis als ätiologischer Faktor.

Immerhin gestattet uns die Wassermannsche Reaktion mit diesen Einschränkungen, den syphilitischen Ursprung gewisser Krankheitsformen festzustellen, bei denen schon die klinische Beobachtung den Schluß auf diese Herkunft nahegelegt hatte. Die progressive Paralyse, die Tabes dorsalis, auch die Atheromatose (Aortitiden) und die daraus folgenden Aneurysmen lassen infolge der positiven Wassermannschen Reaktion ihre syphilitische Herkunft erkennen, welche durch den von Noguchi erbrachten Nachweis der Spirochaeta pallida bestätigt wurde. Diese Reaktion kann also dazu dienen, unerkannte luetische Krankheitsformen nachzuweisen, unklare Krankheits-

bilder auf Syphilis zurückzuführen, die praktischen Fragen der Übertragung der Syphilis von den Eltern auf die Kinder zu lösen und die unheilvolle Ansteckung der Ammen zu verhüten, indem sie die Gegenwart der Lues auch dann verrät, wenn der Gesundheitszustand des Neugeborenen anscheinend ein ausgezeichneter ist.

Im latenten Stadium der Syphilis ist es eine Aufgabe der serodiagnostischen Methode, darüber Aufschluß zu erteilen, ob ein Patient ohne schwere Verantwortung eine Heirat eingehen kann oder nicht; freilich kann auch in diesem Falle die Probe für sich allein nicht maßgebend sein, ist aber wohl geeignet, alle übrigen Daten zu stützen und zu vervollständigen. Es ist endlich ein Verdienst der Wassermannschen Reaktion, das Problem der kongenitalen Lues in ein neues Licht gebracht zu haben, indem der hohe Prozentsatz positiver Reaktionen bei symptomlosen, von syphilitischen Eltern stammenden Kindern zeigen konnte, daß es sich in diesen Fällen nicht, wie man annahm, um Immunität, sondern um latente Syphilis handelte.

Biologische Überwachung.

Sie kann uns schließlich anzeigen, wann die antisyphilitischen Kuren ihre Wirkungen erzielt haben und wann man sie wiederholen soll; bleibt die Reaktion trotz einer energischen Kur positiv, so ist dies ein ungünstiges prognostisches Anzeichen, während der negative Ausfall, besonders wenn er beständig bleibt, für den Heilungsvorgang spricht.

Klinische Anwendung.

Die Wassermannsche Reaktion ist daher dem Kliniker der verschiedenen Zweige der Medizin unentbehrlich geworden, weil sie sowohl für die Diagnose als auch für die Therapie wertvolle Hinweise liefert. Sie ist jetzt ein notwendiger Bestandteil einer jeden klinischen Krankheitsgeschichte geworden, bei der auch nur der entfernte Verdacht einer stattgehabten luetischen Infektion vorhanden ist.

So gewinnt die innere Medizin Anhaltspunkte aus dem Ausfall der Wassermannschen Reaktion für die Ätiologie verschiedener Krankheiten des Nerven- und Kreislaufsystems; bei den ersteren kommen namentlich in Betracht die Tabes und die allgemeine Paralyse, die multiple Sklerose, Hemiplegien und Paraplegien, Dementia praecox und Epilepsie; bei letzteren gewisse Formen von Arteriosklerose und Aortaerkrankungen, namentlich Aneurysmen. Als syphilitisch zeigten sich ferner

einige Formen von Leberzirrhose, Splenomegalie, Nephritis und perniziöser Anämie.

Nicht minder großen Vorteil zieht aus dieser serodiagnostischen Methode die Chirurgie, indem sie bei positivem Ausfall anstatt des operativen Eingriffes eine spezifische Behandlung einleitet.

In der Augen- und Ohrenheilkunde, bei Nasen- und Kehlkopfleiden, bei Hautkrankheiten, in der Gynäkologie und Kinderheilkunde liefert das Verfahren wichtige Anhaltspunkte zur Sicherung der Diagnose und zur Wahl der geeigneten Behandlungsmethode. Auch die spezifische Kur wird mit viel größerem Vertrauen begonnen, wenn sie von einem positiven Wassermann unterstützt wird. Und dem Arzt ist in Fällen, wo Fehl- und Frühgeburten die Hoffnungen der Eltern konstant zunichte machen, seine Forderung nach einer spezifischen Behandlung sehr erleichtert, wenn er sie durch die Serodiagnose bekräftigen kann.

Therapeutische Indikationen.

Sie wird auch als Hilfsmittel bei der Ammenuntersuchung empfohlen, um den Verdacht einer latenten Lues auszuschließen, und sollte hier obligat sein; ebenso auch bei der Lebensversicherung, da die mittlere Lebensdauer erfahrungsgemäß bei Syphilitikern kürzer als die Norm ist. Auch in den Untersuchungsanstalten der Badeorte wird sie sich einbürgern müssen, um die Ätiologie verdächtiger Krankheitsformen zu sichern und die Wirkung der Kur verfolgen zu können. In der Praxis des Spezialisten für Hautkrankheiten und Syphilis ist sie selbstverständlich unentbehrlich, nicht nur für die Diagnose, sondern auch zur sogenannten biologischen Überwachung, welche die Luetiker durch die von Zeit zu Zeit wiederholte serodiagnostische Probe und rasches Eingreifen bei positiver Reaktion nicht nur vor Rezidiven zu bewahren hat, sondern auch vor parasyphilitischen Erkrankungen, der Paralyse, der Tabes und der Aortitis, die mit Recht so gefürchtet sind.

Welch weites Feld der Anwendung dieser Reaktion noch offen steht, ersieht man aus den jüngsten Arsen-Kuren der Syphilis mit 606 und 914. Gerade bei diesen Kuren hat sie außer zum Nachweis ihrer Wirksamkeit auch noch zur Feststellung der Dosierung des Mittels gedient.

Technik der Wassermannschen Reaktion.

Klassische

Die Wassermannsche Reaktion unterscheidet sich in ihrer Technik nicht wesentlich von der Bordet-Gengouschen. Die technischen Details sind aus dem Schema auf Seite 205 zu entnehmen, das zur Aufzeichnung der einzelnen Versuche dient. Außer den für die Komplementbindung üblichen Kontrollversuchen ist, ähnlich wie bei Rotz angegeben wurde, noch einer mit sicher luetischem Serum notwendig, dessen deutlich positive Reaktion dem Hauptversuch mit dem fraglichen Serum größere Beweiskraft verleiht. Unentbehrlich und wichtig für den richtigen Ausfall der Serodiagnose sind die Antigene, die man entweder aus syphilitischen Organen (Leber) von Föten oder aus dem Herzmuskel darstellen kann.

Antigene.

Der Extrakt aus der Leber hereditärluetischer Föten wird auf folgende Weise hergestellt: Die Leber wird gewogen und hierauf fein zerrieben, man setzt pro Gramm der Substanz 4 cm^3 karbolisierter physiologischer NaCl-Lösung (90 cm^3 physiologischer NaCl-Lösung + 10 cm^3 einer 5% igen Karbolsäurelösung) zu, schüttet die Mischung in ein braunes Glasgefäß und gibt es für 24 Stunden in den Schüttelapparat. Das Gemisch wird zentrifugiert und in einem dunklen Glasgefäß im Eisschrank aufbewahrt. Mit der Zeit bildet sich ein leichter Niederschlag über dem ein opaleszierender Extrakt steht; dieser stellt das Antigen der Wassermannschen Reaktion dar und muß dunkel und kalt aufbewahrt werden.

Das antikomplementäre und hämolytische Vermögen des Antigens wird nach folgendem Schema ausgewertet:

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvetten	Antigen luetischer Extrakt	Komplement auf 1 : 10 verdünnt	Physiologische NaCl-Lösung	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	5% ige Erythrozytenaufschwemmung	Ambozeptor auf die Hälfte des Titers verdünnt	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	Resultate
1	0·8	1 Einheit	so viel, daß die Flüssigkeitsmenge 2 cm^3 beträgt		1 cm^3	1 cm^3, enthält 2 hämolytische Einheiten		unvollständige Hämolyse
2	0·6	"			"	"		keine "
3	0·4	"			"	"		vollständige "
4	0·2	"			"	"		" "
5	0·8	—			"	—		unvollständige "
6	0·6	—			"	—		keine "
7	0·4	—			"	—		" "
8	0·2	—			"	—		" "

Auf Grund der nach obenstehendem Schema erzielten Resultate beträgt die anzuwendende Antigendosis, d. h. die Hälfte der Maximaldosis, welche noch vollständige Hämolyse hervorruft, 0·2. Das Antigen aus Herzextrakt wird folgendermaßen erzeugt: Man zerreibt den Herz-

muskel eines Meerschweinchens oder eines Rindes nach Entfernung des Blutes, extrahiert 1 *g* der Masse mit 95 cm^3 5%igen Alkoholes und erwärmt sie einige Stunden lang auf 60°. Dann filtriert man durch Papierfilter und konserviert das Filtrat bei Zimmertemperatur. Man kann diesem Extrakte auch Cholesterin zusetzen.

Die anzuwendende Antigenmenge findet man, indem man 1 cm^3 Antigen mit 4, 5, 6, 7, 8 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvetten	Verdünntes Antigen	Komplement auf 1 : 10 verdünnt	Physiologische NaCl-Lösung	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	5%ige Erythrozytenaufschwemmung	Ambozeptor auf die Hälfte des Titers verdünnt	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	Resultate
1	(1+4) 1 cm^3	1 Einheit	so viel, daß die Menge 2 cm^3 beträgt	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	1 cm^3	1 cm^3 enthält 2 hämolytische Einheiten	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	keine Hämolyse
2	(1+5) „	„			„	„		unvollständige „
3	(1+6) „	„			„	„		fast vollständige „
4	(1+7) „	„			„	„		vollständige „
5	(1+8) „	„			„	„		„ „

Derzeit liefern die serologischen Institute das Antigen und das hämolytische Serum (den Ambozeptor) mit der genauen Angabe ihrer Titer, daher sind die einzigen Vorbereitungen, die man im eigenen Laboratorium treffen muß, folgende: die Entnahme frischen Meerschweinchenserums (Komplement) und die Gewinnung und Waschung der roten Blutkörperchen, die man leicht von Hammeln, eventuell aus der Fleischbank erhalten kann. Daher kann die Wassermannsche Reaktion jetzt auch mit geringem Zeitaufwand in jedem bescheidenen pathologischen oder bakteriologischen Institut ausgeführt werden, wo man über einen Thermostaten von 37°, ein Wasserbad, eine Zentrifuge und einen Eisschrank verfügt und folgendes bereithält: eine gewisse Anzahl von Pipetten von 1 cm^3 Inhalt, die auf Hundertstel eingeteilt sind, und von 10 cm^3 Inhalt, die auf Zehntel eingeteilt sind, ferner Eprouvetten und physiologische Kochsalzlösung, natürlich alles durch Hitze sterilisiert.

Technik.

Vorbereitungen: Man besorgt zuerst aus einem Seruminstitut das hämolytische Serum für Hammelblutkörperchen und das Antigen, vielmehr die Antigene für die Reaktion. Erst dann kann man, am besten am Tage vor Ausführung des Versuches, die anderen notwendigen Behelfe vorbereiten, die man bis zum Augenblicke des Bedarfes im Eisschrank aufbewahrt.

Gewinnung und Inaktivierung des Serums.

Man entnimmt mittels Aspiration durch eine Spritze oder durch einen kleinen Aderlaß mit der Lanzette dem zu untersuchenden Kranken ein wenig Blut (5—10 cm^3) und zur Kontrolle Blut von einem gesunden und einem sicher syphilitischen Individuum, bei dem womöglich noch keine spezifische Kur eingeleitet wurde.

Wenn die aseptisch entnommenen Sera sich vom Gerinnsel abgeschieden haben, werden sie, jedes für sich, zentrifugiert — wenn sie nicht anders von Beimengungen roter Blutkörperchen zu befreien sind — und durch halbstündige Erwärmung auf 56° im Wasserbad inaktiviert. Diese Inaktivierung ist, wie wir wissen, notwendig, um das in jedem frischen Serum vorhandene Komplement zu zerstören.

Vorbereitung der roten Blutkörperchen.

Während der Zeit (3—4 Stunden oder mehr), die zur Abscheidung und Inaktivierung der Sera notwendig ist, bereitet man die Aufschwemmung roter Hammelblutkörperchen vor. Zu diesem Behufe wird etwas Hammelblut — durch einen Aderlaß an der Jugularis, oder vom Schlächter bezogen — in sterilen, Glasperlen enthaltenden Kolben von 100—200 cm^3 angefangen und 15—20 Minuten lang zur Defibrinierung geschüttelt. Die roten Blutkörperchen werden dann abgegossen und zentrifugiert, je nach Geschwindigkeit der Zentrifuge (3000 Umdrehungen in der Minute genügen) entweder so wie sie sind oder nachdem man sie mit 3—5 Teilen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt hat; man wäscht die Blutkörperchen dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung; wenn man 1 cm^3 der gewaschenen abgesetzten Blutkörperchen mit 19 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmt, erhält man die gewünschte 5%ige Suspension roter Blutkörperchen. Übrigens wird die rote Hammelblutkörperchenaufschwemmung auch von den Seruminstituten geliefert; sie läßt sich ungefähr 2 Wochen im Eisschrank frisch erhalten.

Gewinnung des Komplements.

In den Zwischenpausen dieser Vorbereitungen besorgt man das frische Meerschweinchenserum, indem man ein ziemlich großes Meerschweinchen, nachdem man ihm die Haare am Hals abrasiert hat, köpft und das Blut mit Hilfe eines sterilen Trichters in 2 bis 3 ebenfalls sterilen Eprouvetten auffängt; das Serum ist frisch, nicht inaktiviert, innerhalb 24 Stunden zu verwenden, da es als Komplement dienen soll. Um das Serum zu sammeln, trennt man das Koagulum mit einem Glasstäbchen von der Wand, gibt die Eprouvetten auf ein paar Stunden in den Brutschrank und entnimmt hierauf das Serum mittels einer Pipette; wenn notwendig, zentrifugiert man es noch.

Verdünnung

Vorbereitungen unmittelbar vor der eigentlichen Ausführung des Versuches: Bevor man mit dem eigentlichen Versuch beginnt, stellt man noch die Verdünnungen des Antigens, des Komplements und des hämolytischen Serums her, das von den Seruminstituten schon inaktiviert (d. h. nur Ambozeptor ohne Komplement enthaltend), geliefert wird.

Bei der Herstellung dieser Verdünnungen muß man damit rechnen. von jeder die genügende Anzahl von Kubikzentimetern für alle Versuche zu haben; bei den Reagentien, die in der Menge von 1 cm^3 angewendet werden, braucht man ebensoviel Kubikzentimeter als Proben vorhanden sind, bei den anderen erhält man die notwendige Anzahl, indem man die vorherbestimmte Menge mit der Zahl der Eprouvetten multipliziert.

Schema, um die Verdünnungen so herzustellen, daß die gewünschte Dosis in einem Kubikzentimeter enthalten ist.

Zu verdünnende Flüssigkeit	Physiologische Kochsalzlösung	Erhaltene Verdünnung	
1 cm^3	9·0 cm^3	A = 1 : 10	0·1
1 cm^3 von A	0·5	1 : 15	
1 cm^3 von A	1·0	1 : 20	0·05
1 cm^3 von A	1·5	1 : 25	0·04
1 cm^3 von A	2·0	1 : 30	
1 cm^3 von A	2·5	1 : 35	
1 cm^3 von A	3·0	1 : 40	0·025
1 cm^3 von A	3·5	1 : 45	
1 cm^3 von A	4·0	1 : 50	
1 cm^3 von A	5·0	1 : 60	
1 cm^3 von A	6·0	1 : 70	
1 cm^3 von A	7·0	1 : 80	
1 cm^3 von A	8·0	1 : 90	
1 cm^3 von A	9·0	B = 1 : 100	0·01
1 cm^3 von B	0·5	1 : 150	
1 cm^3 von B	1·0	1 : 200	0·005
	usw. usw.		
1 cm^3 von B	9·0 cm^3	C = 1 : 1.000	0·001
1 cm^3 von C	0·5	1 : 1.500	
	usw. usw.		
1 cm^3 von C	9·0 cm^3	D = 1 : 10.000	0·0001
	usw. usw.		

Nach diesem Schema kann man von jeder der Verdünnungen die Anzahl von Kubikzentimetern herstellen, die für eine Reihe von Versuchen nötig sind, wenn man sich nur vor Augen hält, daß von der Stammlösung (A, B, C usw.), von der man von Fall zu Fall ausgeht, 10 cm^3 verfügbar sein müssen.

Das Komplement muß vor der Anwendung bei der Wassermannschen Reaktion nach dem Schema auf Seite 201 ausgewertet werden.

a) der Antigene.

Es ist ratsam, die Reaktion zur Erhöhung ihrer Bedeutsamkeit und Verläßlichkeit mit verschiedenen Antigenen auszuführen. In diesem Fall wird das Antigen (Rinder- oder Meerschweinchenherz) verdünnt. indem man in einer Eprouvette 1 cm^3 der unter diesem Namen im Handel befindlichen Lösung zu 7 cm^3 physiologischer NaCl-Lösung zusetzt. Das Antigen aus syphilitischer Leber mit oder ohne Cholesterinzusatz wird in einer Eprouvette je nach der Angabe des Seruminstitutes auf dem Fläschchen oder nach den Kontrollversuchen des Untersuchers mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt.

Schema für die Wassermannsche Reaktion.

Fortlaufende Bezeichnung der Eprouvetten	Antikörper zu untersuchendes inaktiviertes Serum	Vorherbestimmte Menge Antigen (Original oder Surrogat)	Komplement auf 1 : 10 verdünnt	Physiologische NaCl-Lösung		5% Erythrozytenaufschw.	Ambozeptor auf ½ des Titers verdünnt		Resultate
1.)	0·20 I. Fall	0·2 oder 1 cm^3 v. (1 + 7)	1 Einheit	so viel, daß die Menge 2 oder 3 cm^3 beträgt, je nach dem angewendeten Antigen	½ Stunde im Brutschrank bei 37°	1 cm^3	1 cm^3 enthält 2 I.-E.	2 Stunden im Brutschrank bei 37°	
2.)	0·20 II. „	0·2 oder 1 cm^3 v. (1 + 7)	„	„		„	„		
3.)	0·20 III. „	0·2 oder 1 cm^3 v. (1 + 7)	„	„		„	„		
4.)	0·20 IV. „	0·2 oder 1 cm^3 v. (1 + 7)	„	„		„	„		
Kontrollversuche: 5.)	0·20 V. „	0·2 oder 1 cm^3 v. (1 + 7)	„	„		„	„		
6.)	Normales inaktiviertes Serum 0·20	0·2 oder 1 cm^3 v. (1 + 7)	„	„		„	„		—
7.)	Inaktiviertes, sicher syphilitisches Serum 0·15	0·2 oder 1 cm^3 v. (1 + 7)	„	„		„	„		+
8.)	— —	— — —	„	„		„	„		—
9.)	— —	— — —	„	„		„	— —		+
10.)	— —	— — —	— —	2—3 cm^3		„	„		+

Bedeutung der Zeichen:

\+ keine Hämolyse: positive Reaktion

± unvollständige Hämolyse: teilweise, zweifelhafte Reaktion

— vollständige „ negative Reaktion

Wenn möglich, probiert man die Sera gleichzeitig mit beiderlei Antigenen aus.

b) des hämolytischen Serums.

Das von einem Seruminstitut bezogene hämolytische Serum trägt die Angabe des Titers, d. h. des Verhältnisses, in dem es mit physiologischer Kochsalzlösung gemischt werden muß, damit in 1 cm^3 der Verdünnung gerade eine hämolytische Einheit enthalten sei; dies ist, wie bekannt, die kleinste zur Sensibilisierung von 1 cm^3 der Erythrozytenaufschwemmung noch ausreichende Serummenge. Es ist jedoch bei der Wassermannschen Reaktion üblich, das hämolytische Serum weniger zu verdünnen, so daß in 1 cm^3 der Verdünnung 2—3 Einheiten enthalten sind; dies erzielt man, indem man 1 cm^3 des Serums mit einem Drittel

bis zur Hälfte der Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, die auf der Etikette angegeben steht. So muß ein Serum, daß die Angabe 1 : 900 trägt, im Verhältnis von 1 : 300 bis 450 verdünnt werden. Doch muß die Verdünnung, die für den Hauptversuch angewendet wird, auch für alle Kontrollversuche dieselbe bleiben.

Untersuchung verschiedener Sera.

Da die Kontrollversuche immer die gleichen bleiben und nicht zahlreicher werden, wenn man die Sera mehrerer verdächtiger Individuen zugleich untersucht, ist es sehr vorteilhaft, mehrere Sera auf einmal zu untersuchen, indem man z. B. in kleinen Laboratorien einen Tag der Woche für die Wassermannsche Reaktion festsetzt.

Ausführung der Untersuchungen.

Das Schema, das wir angeführt haben und an das wir uns bei Schilderung der Ausführung der einzelnen Versuche halten werden, dient zur gleichzeitigen Registrierung von fünf serodiagnostischen Untersuchungen.

Disposition der Versuche nach dem Schema.

Obenan notiert man den Titer des hämolytischen Serums, das bei dem Versuche zur Anwendung gelangen soll, so wie er auf der Etikette der vom Seruminstitut gelieferten Phiole angegeben ist, z. B. 1 : 1000.

Verteilung in Eprouvetten

Erster Teil: Man beginnt damit, die 10 Eprouvetten, welche zur Anstellung der in dem Schema angegebenen Versuche dienen sollen, mit den Nummern 1 bis 10 zu bezeichnen.

a) der Sera.

Dann setzt man mit Hilfe von Pipetten von 1 *cm*³ Inhalt, die in Hundertstel geteilt sind, wobei man für jedes Serum eine frische Pipette verwendet, zu einer jeden Eprouvette 0·20 *cm*³ der verschiedenen inaktivierten Sera zu, und zwar zu den Eprouvetten Nr. 1 bis Nr. 5 die zu untersuchenden Sera, zu Nr. 6 normales Serum von einem zweifellos nicht syphilitischen Individuum und zu Nr. 7 Serum von einem sicher syphilitischen Individuum; alle diese Sera müssen vorher durch Erwärmen auf 56⁰ inaktiviert worden sein.

b) des Antigens.

Mittels einer Pipette von 1 oder 10 *cm*³ Inhalt verteilt man in jede der ersten 7 Eprouvetten, die die Nummern 1 bis 7 tragen, je 1 *cm*³ des Antigens für die Wassermannsche Reaktion, das man, wie oben angegeben, verdünnt oder des Ersatzes.

c) des Komplements.

Mit einer sterilen Pipette von 1 *cm*³ Inhalt, die in Hundertstel eingeteilt ist, verteilt man in alle Eprouvetten außer Nr. 10 die vorher ausgewertete Komplementeinheit in der Verdünnung 1 : 10, und zwar benützt man frisches, am Abend vorher entnommenes und nicht inaktiviertes Meerschweinchenserum.

d) der physiologischen Kochsalzlösung.

In alle zehn Eprouvetten gießt man mit einer Pipette von 10 *cm*³ Inhalt so viel physiologische Kochsalzlösung, als zur Ergänzung der Flüssigkeit auf dasselbe Volumen, nämlich 2 oder 3 *cm*, notwendig ist.

Halbstündiger Aufenthalt im Thermostaten.

Damit ist der erste Teil der Untersuchung beendet und alle zehn Eprouvetten werden nach kräftigem Schütteln für eine halbe Stunde in den Thermostaten gegeben, damit die Vorgänge der gegenseitigen Einwirkung von Antigen und Antikörper aufeinander, sowie die sie begleitende Komplementbindung vor sich gehen können.

Wassermannsche Reaktion.



1. stark positiv (+++)





2. positiv (+)



3. zweifelhaft (±)



4. negativ (−)

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Verlag von J. Šafář in Wien u. Leipzig.



Zweiter Teil. Zusatz

Zweiter Teil: Die Eprouvetten werden dem Thermostaten entnommen und zu jeder die sensibilisierten roten Blutkörperchen zugesetzt, die als Indikatoren der Gegenwart oder des Schwundes des Komplements dienen. Die Erythrozyten und das hämolytische Serum (oder der Ambozeptor) werden aus Bequemlichkeitsgründen separat in die Eprouvetten verteilt, anstatt vorher noch miteinander gemischt zu werden.

a) der roten Blutkörperchen.

b) des verdünnten hämolytischen Serums.

Man läßt nämlich mit einer graduierten Pipette in jede der zehn Eprouvetten 1 *cm*³ der Erythrozytenaufschwemmung fallen. Dann setzt man ihnen mit Ausnahme von Nr. 9 je 1 *cm*³ des verdünnten, 2 hämolytische Einheiten enthaltenden Serums zu: diese Verdünnung liegt in dem im Schema angeführten Beispiel bei 1 : 500. Zu Nr. 9 gibt man gar kein hämolytisches Serum.

Man schüttelt alle Eprouvetten durch und gibt sie dann wieder für 2 Stunden in den Thermostaten, dann in den Eiskasten.

Man schüttelt wiederum den Inhalt einer jeden Eprouvette gut durch und gibt dann alle Eprouvetten wieder für 2 Stunden in den Thermostaten; während dieser Zeit schüttelt man sie wieder ein paar Mal. Nachdem auch dieser zweite Teil erledigt ist, bewahrt man die Eprouvetten bis zum folgenden Morgen im Eiskasten auf, um sie dann zur Ablesung der Resultate herauszunehmen.

Ablesen der Resultate.

Ablesen der Resultate. Um die Resultate richtig beurteilen zu können, hat man bei jeder Eprouvette nachzusehen ob, darin Hämolyse eingetreten ist oder nicht. Die Hämolyse ist komplett, wenn die Flüssigkeit stark rot gefärbt ist und keine Spuren unaufgelöster roter Blutkörperchen am Boden der Eprouvette zurückgeblieben sind; sie ist nur partiell, wenn die Färbung der Flüssigkeit wohl eine rote ist, aber doch ein Bodensatz ungelöster Erythrozyten vorhanden ist; sie fehlt vollständig, wenn die Flüssigkeit fast oder ganz farblos ist und die Blutkörperchen alle intakt am Boden liegen. (Siehe Tafel V.)

Man notiert die Resultate in das Schema, indem man bei vollständig fehlender Hämolyse ein + registriert, — bei kompletter, ± bei inkompletter Hämolyse.

Forderungen für die Kontrollversuche.

Um den Hauptversuchen ihren vollen Wert zu sichern, ist es notwendig, daß die Kontrollversuche folgende Resultate ergeben:

Nr. 6 komplette Hämolyse —
Nr. 7 Hämolyse null +
Nr. 8 komplette Hämolyse —
Nr. 9 Hämolyse null +
Nr. 10 Hämolyse null +

Nur wenn die Kontrollversuche die gewünschten Resultate ergeben haben, kann die Reaktion als gelungen bezeichnet werden, weil damit bewiesen ist: daß bei normalem Serum keine Komplementbindung eintritt (6), daß die Bindung mit syphilitischem Serum vollständig ist (7), daß das hämolytische System den Anforderungen entspricht, und zwar daß vollständige Hämolyse der Blutkörperchen bei Vorhandensein von Ambozeptor und Komplement eintritt (8), daß sie hingegen fehlt, wenn man den Ambozeptor (hämolytisches Serum) (9) oder das Komplement (10) wegläßt.

Sind alle diese Versuche ordnungsgemäß ausgefallen, so kann man auf eine positive Wassermannsche Reaktion schließen, wenn in der entsprechenden Eprouvette keine Hämolyse eingetreten ist, auf eine negative, wenn die Hämolyse komplett ist, auf eine zweifelhafte, wenn die Hämolyse partiell ist.

In der beschriebenen Form kann die Wassermannsche Reaktion überall dort ausgeführt werden, wo ein kleines Laboratorium mit den nötigen Gerätschaften (Brutschrank und Zentrifuge) zur Verfügung steht. Um die Reaktion dem Praktiker zugänglich zu machen, sind zahlreiche Modifikationen ersonnen worden, die aber insgesamt der oben angeführten Methode nicht gleichwertig sind. Mehr Glück scheint der Adaptierung der Originalmethode an die Bedürfnisse des Praktikers dadurch beschieden zu sein, daß alle Reagentien einschließlich der roten Hammelblutkörperchenaufschwemmung gebrauchsfertig in den Handel gebracht werden.

Eine Anpassung des Versuches an kommerzielle Verhältnisse ist auch mit der v. Dungernschen Methode versucht worden, bei welcher die roten Blutkörperchen des hämolytischen Systems von dem Blut des geprüften Serums geliefert werden und das Hammelserum durch menschliches Serum ersetzt wird.

Der erste Platz bei der Serumdiagnose der Syphilis ist und bleibt jedoch dem oben ausführlich beschriebenen Verfahren vorbehalten, ungeachtet der größeren Einfachheit der von v. Dungern vorgeschlagenen Abänderung, denn es verfügt bereits über eine große Zahl von Zeugnissen, die seine Brauchbarkeit und Zuverlässigkeit bestätigen.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, die Wassermannsche Reaktion durch andere serodiagnostische Verfahren zu ersetzen. Im Gegensatze zu den verschiedenen Modifikationen, welche an Stelle der Originalmethode, zu deren Ausführung eine geeignete Arbeitsstätte und geschulte Fachleute nötig sind, dem Praktiker zugängliche Vereinfachungen einzuführen bezweckten, sollten diese nicht die Wassermannsche Reaktion ersetzen, sondern mehr eine stets wünschenswerte Ergänzung zur Serodiagnose der Syphilis bilden. Außer den schon erwähnten Präzipitations- oder besser Ausflockungsreaktionen, unter denen sich die von Sachs-Georgi besonders bewährt hat, kommen da die im nächsten Kapitel zu besprechende Meiostagminprobe und das auf der Erscheinung der Konglutination, deren

Wirkungsmechanismus wir im vorigen Kapitel besprochen haben, fußende Karvonensche Verfahren in Betracht.

Karvonensches Verfahren bei Syphilis.

Da die Konglutinationsreaktion bei Syphilis als praktisch nicht vorteilhaft erkannt wurde, erübrigt sich ein genaueres Eingehen auf die Technik, doch kann die Methode neben der Wassermannschen Reaktion Anwendung finden.

Die Konglutination wurde zwar bisher außer bei Rotz als Indikator der Komplementbindung bloß in beschränktem Maße verwertet, immerhin verdient sie hier wenigstens erwähnt zu werden, bevor wir dieses für die Praxis der Komplementbindung und der Serodiagnose so bedeutungsvolle Kapitel abschließen, um zu den mehr physikalisch-chemischen Reaktionen überzugehen.

Zehntes Kapitel.

Serodiagnostik des Krebses und der Schwangerschaft. — Meiostagminreaktion. — Abwehrfermente.

Physikalisch-chemische Reaktionen. — Die Meiostagminreaktion bei Typhus, bei Syphilis, bei der Tuberkulose, bei der Maul- und Klauenseuche etc. — Serodiagnose des Krebses. — Freundsche Reaktion. — Antitrypsin. — Schwangerschaftsdiagnose.

Physikalisch-chemische Reaktionen.

Die Komplementbindungsreaktionen sind ungeachtet der theoretischen und praktischen Schwierigkeiten, die sich ihrer Weiterverbreitung entgegenzustellen schienen, jetzt schon dem Kliniker in Fleisch und Blut übergegangen. Trotzdem waren Versuche gerechtfertigt, auch andere Vorgänge bei den Immunitätsreaktionen zu finden, die gestatten würden, mit einem einfacheren Indikator, als das hämolytische System es ist, zu arbeiten. Die Annahme, daß die durch Hemmung der Hämolyse sichtbar gewordenen Reaktionen von physikalisch-chemischen Veränderungen im Innern der Flüssigkeiten begleitet seien, wurde unter anderen von Weichardt und Ciuffo verfochten, die zeigen konnten, daß beim Zusammenbringen von Antigen und Antikörper das physikalisch-chemische Verhalten der Komponenten sich wesentlich verändert.

Weichardt.

Weichardt fand, daß man mit bestimmten rein physikalischen Versuchsanordnungen Antigen-Antikörperwirkungen in vitro zur Anschauung bringen kann. Er hat ein Diffusiometer konstruiert, das eine Diffusionsbeschleunigung anzeigt, wenn Antigene und Antikörper in bestimmten Verdünnungen aufeinander wirken. Später führte Weichardt, da sich physikalische Apparate für die feine Reaktion als zu grob erwiesen, ein zweites System (Baryumsulfat) ein, dem vor und nach der Bindung das Antigen-Antikörpergemisch zugefügt wird. Dann ver-

schiebt sich der Umschlagepunkt eines hinzugefügten Indikators. Diese Reaktion nannte Weichardt Epiphaninreaktion (ἐπιφάνεια = Oberfläche) und führte sie mit den verschiedensten Antigenen und Antikörpern, so auch mit Karzinomantigenen und -antikörpern aus. Eine praktische Bedeutung kann jedoch die Epiphaninreaktion nicht beanspruchen.

Meßbare Veränderungen.

Während sich diese Untersuchungen auf die Diffusionsbeschleunigung bezogen, wandte sich M. Ascoli dem Studium der Oberflächenspannung bei Reaktionen zwischen Antikörpern und Antigenen zu und fand dabei oft meßbare Veränderungen in derselben. Die bei diesen Vorgängen sich neu bildenden Produkte, die leichter als ihre Komponenten diffundieren, lassen sich nämlich durch einfache Zählung der im gleichen Volumen der Komponenten sowie der Resultante enthaltenen Tropfen nachweisen. Diese Zählung gestattet also auf einem neuen Wege dieselben Vorgänge zu verfolgen, zu deren Feststellung man sich bis jetzt der Agglutination, der Präzipitation und des hämolytischen Systems bediente.

Das Produkt der Reaktionen zwischen Antigenen und Antikörpern führt also zu einer Verminderung der Oberflächenspannung; diese kommt in einer Vermehrung der Tropfenzahl zum Ausdruck, die in einem bestimmten Flüssigkeitsvolumen enthalten ist.

Meiostagminreaktion von M. Ascoli.

Diese neue physikalisch-chemische Reaktion ist auf die Untersuchung von Antigenen und Antikörpern in analoger Weise wie die anderen serodiagnostischen Methoden anwendbar und ergibt nicht weniger spezifische Resultate als z. B. die Bindungsreaktion. Mischt man Typhusextrakt und Serum Typhöser in bestimmtem Verhältnis und gibt sie auf ein paar Stunden in den Thermostaten, so sind die zwischen Antigen und Antikörper sich abspielenden Vorgänge ebensogut durch die Vermehrung der Tropfenzahl, wie durch die antikomplementäre Wirkung der Flüssigkeit nachweisbar.

Anwendungen

Diese Meiostagminreaktion (μείων kleiner, στάγμα Tropfen, somit: kleinere Tropfen) wurde alsbald von Izar zum Nachweis von Antikörpern bei Syphilis, bei Tuberkulose, bei Echinokokkose in ähnlicher Weise wie die uns schon bekannten serodiagnostischen Methoden angewendet. Die Untersuchungen von Vigano über die Meiostagminreaktion bei Typhus zeigen, daß sie Resultate ergibt, die mit der Widalschen Probe übereinstimmen und

bei Typhus.

ebenso spezifisch sind; denn die Vermehrung der Tropfenzahl wird nur dann beobachtet, wenn das Serum des Typhuskranken mit Extrakt von Typhusbazillen versetzt wird und fehlt bei Extrakten von Paratyphus A und Paratyphus B. Aus den verschiedenen serodiagnostischen Anwendungen, die diese neue Methode binnen kurzem fand, ging nicht nur ihre allgemeine Bedeutung hervor, sondern es traten auch einige Eigentümlichkeiten zutage, die ihren theoretischen und praktischen Wert illustrieren. Sie fällt bei Seris Luetischer ebenso positiv aus wie die Wassermannsche Reaktion, scheint aber insofern spezifischer zu sein, als die Vermehrung der Tropfenzahl bei der Reaktion zwischen den Seren Lepröser und syphilitischem Leberextrakt ausbleibt, während nach der Wassermannschen Versuchsanordnung deutliche Hemmung der Hämolyse eintritt.

bei Syphilis.

Allerdings kann die Meiostagminreaktion schon darum nicht berufen sein, die Wassermannsche Reaktion zu ersetzen, weil sie wegen der geringen Haltbarkeit der Antigene für die allgemeine Praxis wenig geeignet ist. Aber sie könnte sehr wohl angewendet werden, wenn der Wassermann negativ war, weil es seltene Fälle von Lues gibt, bei denen nur die eine der beiden Reaktionen positiv, die andere aber negativ ist, obwohl sie sonst in der großen Mehrzahl der Fälle in ihren Resultaten vollständig übereinstimmen.

bei der Tuberkulose.

Bei der Tuberkulose scheint eine positive Meiostagminreaktion mehr auf einen floriden spezifischen Prozeß hinzudeuten, zum Unterschied von den anaphylaktischen Reaktionen, die so empfindlich sind, daß sie auch latente Herde aufdecken. Was die Aufklärung des vielumstrittenen Problems von der Identität des Bacillus humanus und bovinus betrifft, so verdienen die Resultate von Gasparrini besondere Beachtung, der mittels der Meiostagminreaktion einen neuen Beitrag zur Differenzierung dieser beiden Typen voneinander, und der Säugetiertuberkulose von der Hühnertuberkulose lieferte.

Serodiagnose des Krebses.

Aber den eigentlichen Wirkungskreis für die Meiostagminreaktion fanden M. Ascoli und Izar bei den malignen Tumoren, weil sie da diagnostische Anhaltspunkte liefert, wo der klinische Wert der Komplementablenkung wegen der Inkonstanz und Verschiedenheit der Resultate nicht anerkannt wird. Schon die ersten Untersuchungen dieser Forscher hatten ergeben, daß die Sera von an malignen Tumoren leidenden Menschen und ebenso von

experimentell sarkomatös gemachten Ratten mit Antigenen von Ratten und von Menschen mit bemerkenswerter Regelmäßigkeit eine Vermehrung der Tropfenzahl im Vergleich zu den Seris gesunder oder mit anderen Krankheiten behafteter Individuen zeigen. Später fand man zwar, daß an Stelle des spezifischen Tumorantigens auch Pankreasextrakte treten können. Auf Grund der zahlreichen Nachprüfungen darf man aber die biologische Diagnose der malignen Tumoren schon heute als eine neue Errungenschaft der Serodiagnose betrachten, welche in der Mehrzahl der Fälle bei Karzinomatösen positive Resultate ermöglicht.

Allerdings gibt es Fälle, in denen die Meiostagminreaktion auch beim Fehlen einer karzinomatösen Erkrankung positiv ausfiel, und M. Ascoli und Izar selbst haben solche Ausnahmen gefunden. Die Untersuchungen von Micheli und Cattoretti, die daraufhin diesbezügliche Forschungen anstellten, haben dann ergeben, daß in ganz seltenen Fällen von Diabetes, weit vorgeschrittener Tuberkulose, krupöser Pneumonie, vorgeschrittener Leberzirrhose oder Schwangerschaft ein positiver Ausfall der Reaktion gefunden werden kann. Der klinische Wert der Meiostagminreaktion wird aber durch solche Ausnahmen ebensowenig beeinträchtigt, wie der des Wassermann, der ebenfalls in ähnlichen Ausnahmsfällen positiv befunden wurde, da in solchen Fällen die klinischen Unterscheidungsmerkmale meistens genügend deutliche sind, um eine Verwechslung auszuschließen. Gerade bei bösartigen Geschwülsten scheint das Wesen dieser Reaktion aber nicht in der gegenseitigen Beeinflussung von Antigen und Antikörper zu bestehen; vielmehr kommt in derselben eine besondere Eigentümlichkeit der Tumorsera zum Ausdruck. Sie sind nämlich weniger als die anderen Sera befähigt, die Wirkung bestimmter Fettsäuren zu neutralisieren, die im Antigen enthalten und imstande sind, auch in hochgradigen Verdünnungen eine wesentliche Herabsetzung der Oberflächenspannung hervorzurufen.

Auf diesem außerordentlichen Verhalten beruht die Meiostagminreaktion beim Krebs. In der Hand eines erfahrenen Forschers bildet die Meiostagminreaktion bei malignen Tumoren eine serodiagnostische Methode von großer Bedeutung.

In der Veterinärmedizin fand die Meiostagminreaktion ebenfalls entsprechende Verwertung bei der Maul- und Klauenseuche, da ihr positiver Ausfall beim Zusammenbringen des

bei Maul- und Klauenseuche.

Serums aphthöser Tiere mit einem alkoholischen Extrakt des filtrierbaren Virus ihre Anwendung zur Erforschung von Dauerausscheidern des Virus nahelegt. Da nämlich die Reaktion auch bei geheilten Tieren manchmal noch lange Zeit positiv bleibt, kann sie dazu dienen, diejenigen aufzufinden, die dauernd das Virus ausscheiden; in ähnlicher Weise wie andere serodiagnostische Reaktionen, die Agglutination, die Bakteriolyse, die Bestimmung des opsonischen Index, die Komplementbindung imstande sind, Bazillenträger nachzuweisen.

Technik.

Zur Ausführung der Meiostagminreaktion benötigt man:

1. das Traubesche Stalagmometer,
2. Antigen,
3. das zu untersuchende Serum,
4. Normalserum,
5. Tumorserum oder syphilitisches, typhöses, tuberkulöses usw. Serum,
6. 0·85%ige physiologische Kochsalzlösung,
7. Reagensröhrchen und Pipetten,
8. Wasserbad (50°).

Das Traubesche Stalagmometer (Fig. 23) wird von der Firma C. Gerhardt in Bonn a. Rh. in den Handel gebracht; es besteht aus einem in der Mitte kugelförmig aufgeblasenen Glasrohr, dessen untere Hälfte zweimal rechtwinklig abgebogen ist; das Lumen der horizontalen Strecke ist kapillär, das Rohr endet in einer kreisrunden Abtropffläche. Zwei durchgehende Marken (A, B) oberhalb und unterhalb der kugelförmigen Auftreibung grenzen ein bestimmtes Volumen ab und liegen in der Mitte einer Skala zehn weiterer, nicht durchgehender Striche. Ausdrücklich zu verlangen ist das alte Modell mit einem Volumen zwischen 50 und 60 Tropfen, Skala in $^1/_{10}$-Teilung und Ausflußzeit zwischen 3 und 4 Minuten. Eine ausführliche Gebrauchsanweisung liegt bei. Es sind bei der Ausführung der Reaktion so viele Details zu berücksichtigen, daß eine Einarbeitung unter der Leitung eines Geübten unerläßlich erscheint.

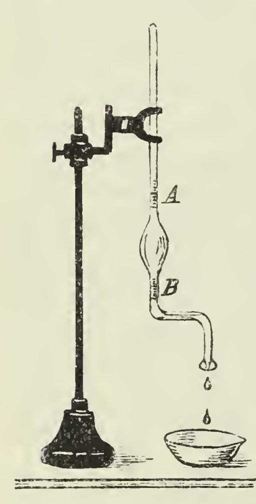


Fig. 23.
Stalagmometer.

Als Antigen dient bei Tuberkulose und Typhus ein alkoholischer oder auch ein wässeriger Kulturextrakt; bei Syphilis syphilitischer Leber- oder Milzextrakt; bei Anchylostomanämie ein Extrakt der aus den Fäzes isolierten Anchylostomen; bei Maul- und Klauenseuche Extrakt aus den Pusteln und Schleimhautfetzen. Bei Karzinom, dem hauptsächlichsten und interessantesten Arbeitsgebiet der Meiostagminreaktion, dient als Ausgangsmaterial für das Antigen entweder ein maligner Tumor, von dem kein Fett und nur nicht zerfallene Teile

genommen werden dürfen, oder Rinderpankreas. Nach gründlicher Zerkleinerung und Trocknung wird das trockene Pulver im Verhältnis 1 : 5 mit Methylalkohol 2—3 Tage bei 37—50° extrahiert, dann zunächst heiß und schließlich kalt durch gehärtete Filter filtriert. Der Extrakt ist sehr labil und muß, vor Licht geschützt, im kühlen Raum, aber nicht im Eisschrank aufbewahrt werden. An Stelle des Tumorextraktes kann ein auf gleiche Weise hergestellter Pankreasextrakt vom Rinde angewendet werden. Von dem Stammextrakte werden unmittelbar vor Anstellung der Probe verschiedene Verdünnungen hergestellt, indem man mit trockener Pipette die nötige Menge der Stammlösung in ganz trockene Reagensröhrchen bringt, destilliertes Wasser zusetzt und kräftig schüttelt. In einem Vorversuche wird nun zuerst die Titrierung des Extraktes vorgenommen: eine Reihe trockener, sauberer Reagensröhrchen wird mit je 9 cm^3 Normalserum und Tumorserum, die beide mit 0·85%iger physiologischer NaCl-Lösung auf $^1/_{20}$ verdünnt wurden, beschickt. Von den Antigenverdünnungen zu 1 : 50, 1 : 75, 1 : 100, 1 : 125 usw. wird je 1 cm^3 entnommen und den verschiedenen Röhrchen zugesetzt. Als Vergleichsobjekt wird je eines der Röhrchen des Normalserums, resp. des Tumorserums mit 1 cm^3 Wasser statt Extrakt beschickt. Die Gemische werden gut durchgeschüttelt, damit sich Antigen und verdünntes Serum vermengen, bleiben dann 1 Stunde im Wasserbade bei 50°; hierauf werden sie durch zweistündiges Stehenlassen auf Zimmertemperatur abgekühlt, worauf man mittels des Stalagmometers die in einem bestimmten Volumen der Flüssigkeit enthaltene Tropfenzahl zählt. Als Testdosis wird nun diejenige gewählt, welche sich in der Probe mit Normalserum um etwa 3—5 Teilstriche eines Tropfens (also um weniger als $^1/_2$ Tropfen) von der Vergleichsprobe unterscheidet, in der Probe mit Tumorserum hingegen einen Ausschlag von über $1^1/_2$—2 Tropfen gegenüber der Vergleichsprobe zeigt. Nun kann der Hauptversuch beginnen: man berechnet auf dem Stalagmometer vergleichend die Tropfenzahl der Mischung von 9 cm^3 der auf $^1/_{20}$ verdünnten Sera mit 1 cm^3 Wasser einerseits und der Mischung von 9 cm^3 derselben Sera mit 1 cm^3 Antigenaufschwemmung (Testdosis) andererseits; vor der Zählung läßt man die Mischung eine Stunde im Wasserbade bei 50° oder 2 Stunden im Brutschrank bei 37°, dann kühlt man sie ab (durch mindestens zweistündiges Stehenlassen bei Zimmertemperatur). Ist die Tropfenzahl in der Mischung des untersuchten Serums + Tumorextrakt um mindestens 2 Tropfen größer als in der Vergleichsprobe + Wasser, so gilt die Reaktion als positiv, vorausgesetzt, daß unter denselben Bedingungen ein Normalserum negativ (Differenz geringer als $^1/_2$ Tropfen), ein erfahrungsgemäß positives frisches Tumorserum positiv (Differenz von mindestens 2 Tropfen) reagiert.

Später hat Izar wie auch Blumenthal vorgeschlagen, die aus der Umständlichkeit der Darstellung und der Labilität der Extrakte erwachsenden Schwierigkeiten zu beseitigen, indem man sie durch eine geeignete Linol-Rizinolsäurelösung ersetzen sollte. Die Lösung wird von der Firma Th. Schuchardt (Görlitz) gebrauchsfertig in zugeschmolzenen Ampullen geliefert; zu jeder Versuchsserie ist eine neue Ampulle zu benützen. Mittels einer besonderen Pipette (erhältlich bei C. Gerhardt —

Bonn a. Rh.) wird auf den Boden eines trockenen Reagensglases von 2 *cm* Durchmesser und 10 *cm* Höhe genau 0·01 cm^3 der Linol-Rizinolsäurelösung gebracht, darauf 1 cm^3 des zu untersuchenden Serums zugesetzt, sanft geschüttelt und dann auf einmal 9 cm^3 0·85%iger Kochsalzlösung zugegossen, das Reagensglas mit dem Daumen verschlossen und 3–4mal umgekippt. Als Vergleichsobjekt dient dasselbe Serum, ohne Antigenzusatz, mit Kochsalzlösung im gleichen Verhältnis (1:10) verdünnt. Erhitzen, Abkühlung, stalagmometrische Bestimmung, Kontrollen mit bestimmt negativem, frischem Normalserum und notorisch positivem, frischem Tumorserum wie früher angegeben.

Lipoide Gemische

Die Meiostagminreaktion scheint, soweit man bis jetzt beurteilen kann, besonders in solchen Fällen gute Dienste zu leisten, wo die Immunitätsvorgänge sich zwischen lipoiden Antigenen und Antikörpern abspielen, während die Komplementbindung und die Präzipitine mehr zur Untersuchung eiweißartigen Materials geeignet sind.

Man darf indes nicht übersehen, daß gerade die Labilität der lipoiden Antigene ihrer praktischen Verwertung Hindernisse bereitet, da diese sehr veränderlich sind und selbst in Form von Trockensubstanz Umwandlungen erleiden, auch wenn sie mit der größten Sorgfalt und Schnelligkeit getrocknet und vor Feuchtigkeit vollständig geschützt aufbewahrt werden. Überhaupt muß betont werden, daß die Meiostagminreaktion nicht ohneweiters ausführbar ist, da sie schon wegen der Neuheit der Technik, die sich von den übrigen Reaktionen so sehr unterscheidet, vom Untersucher verlangt, daß er durch Übung und entsprechende Anleitung gelernt hat, sie vollständig zu beherrschen.

Freundsche Reaktion.

Der Unterschied zwischen dem Serum Karzinomkranker und Gesunder äußert sich übrigens auch in anderer Form bei der Freund-Kaminerschen Zellreaktion. Sie beruht auf der Beobachtung, daß das Serum karzinomfreier Individuen Karzinomzellen zerstört, aber die Organzellen Karzinomatöser sowohl als Karzinomfreier unverändert läßt, während umgekehrt das Serum karzinomatöser Individuen unfähig ist, Karzinomzellen zu zerstören, und sich Organzellen Karzinomatöser wie Karzinomfreier gegenüber wie gesundes Serum verhält. Die zerstörende Wirkung der Sera kann durch Zählung der Zellen aus einer Tumoremulsion direkt gemessen werden, was nach den neuesten Forschungen eine relativ einfache Methode und einen weiteren Fortschritt in der Serodiagnose des Krebses bedeutet.

Das im Verlaufe der Arbeiten modifizierte Verfahren besteht darin, daß man Tumorstückchen aus nicht zerfallenen Geschwülsten in der fünffachen Menge 1%iger Lösung von Natrium biphosphoricum fein zerkleinert, durch Gaze preßt und absetzen läßt. Dann wäscht man die Zellen mit 0·6%iger NaCl-Lösung und versetzt die neuerlich abgesetzten Zellen mit 1%iger Fluornatriumlösung, die vorher unter Alizarinzusatz neutralisiert wurde. Das Verschwinden der Violettfärbung bis auf Spuren zeigt die Grenze der Alkaleszenz an. Zur Beobachtung der Zellen nach dem Zusatz von Serum bedient man sich des Thoma-Zeisschen Zählapparates. Man mischt in kleinen Eprouvetten 10 Tropfen Serum mit 1 Tropfen der Zellaufschwemmung und 1 Tropfen einer 5%igen Fluornatriumlösung, läßt 24 Stunden im Brutschrank bei 40° stehen und zählt vorher und nachher die Zellen des Gemisches. Mit Rücksicht auf die verschiedene Alkaleszenz der Sera und Zell-Emulsion empfiehlt es sich, bei Anstellung der Prüfung zu der Serum-Zell-Mischung 1—2 Tropfen 1%iger Natriumcarbonicum-Lösung zu geben, so daß die Mischung mit Phenolphtalein eben Rosafärbung zeigt.

Auf Grund aller vorliegenden Untersuchungen erscheint jedoch die Freund-Kaminersche Reaktion nicht spezifisch genug, um bloß auf ihren Ausfall hin eine Diagnose zu stellen, denn es reagieren Karzinomsera rund in $1/_5$ der Fälle negativ, d. h. sie lösen die Krebszellen auf, während von normalen Seris durchschnittlich $1/_4$ positive Reaktionen nach Freund-Kaminer ergeben, d. h. die Karzinomzellen nicht zu lösen vermögen.

Antitrypsin.

Zu diagnostischen Zwecken, speziell zur Diagnose des Krebses, wurden noch andere Verfahren angegeben, die sich jedoch insgesamt nicht eingebürgert haben, weil sie in einem nicht geringen Prozentsatz der Fälle versagen. Im kachektischen Stadium wird beim Karzinom mit ziemlicher Regelmäßigkeit eine Steigerung des antitryptischen Vermögens des Serums vorgefunden. Die Erhöhung des antiproteolytischen Titers des Serums ist auf eine Antikörperbildung gegen das tryptische Ferment der Polynukleären zurückzuführen, das bei Krebskachexie durch Leukozytenzerfall frei wird; sie läßt sich zwar bei etwa 90% der Karzinomatösen nachweisen, wird jedoch auch bei kachektischen Zuständen anderer Ätiologie und bei infektiösen Fieberzuständen angetroffen, so daß sie keine klinisch brauchbaren Anhaltspunkte für die Krebsdiagnose zu liefern vermag. Bedeutsamer scheint nach Rosenthal die physiologischerweise während der Schwangerschaft auftretende Zunahme der hemmenden Wirkung des Serums auf das Trypsin zu sein, da sie unter Umständen die Schwangerschaftsdiagnose zu unterstützen vermag.

Zum Nachweis des antitryptischen Vermögens haben sich namentlich zwei Methoden bewährt. Die eine wurde von Jochmann und Müller zur Prüfung des Leukozytenferments und seiner Antifermente eingeführt. Sie beruht darauf, daß die Löfflersche Serumplatte von den proteolytischen Fermenten verdaut wird, so daß bei Zusatz derselben eine Dellenbildung entsteht, die bei Gegenwart einer die verdauende Wirkung neutralisierenden Serummenge unterbleibt. Diese Plattenmethode nach Jochmann und Müller wird wie folgt ausgeführt: Als Fermentlösung verwendet man eine Trypsinlösung (0·1 *g* Trypsin. 5 cm^3 Glyzerin, 5 cm^3 destilliertes Wasser), die gut durchgeschüttelt. 24 Stunden bei 55⁰ aufbewahrt, nochmals geschüttelt und filtriert wird. Die Löfflerplatte (3 Tage altes Rinderserum) wird an mehreren vereinzelt liegenden Stellen mit je einer Öse Serum beschickt; dazu fügt man $1/2$, 1, 2, 3, 4 usw., eventuell bis zu 20 Ösen Trypsinlösung; nach 24stündigem Verweilen der Platte in dem auf 55⁰ eingestellten Brutschrank wird abgelesen, welche Fermentmenge durch das Serum eben noch in ihrer Wirkung neutralisiert wurde. Die Mischung von Serum und Trypsin kann besser in vitro vorgenommen und die fertige Mischung auf die Löfflersche Platte übertragen werden. Die zweite Methode beruht auf der Tatsache, daß eine Kaseinlösung durch Trypsin verdaut wird: ist das Kasein vollständig verdaut, so kann durch Säurezusatz kein Kasein mehr ausgefällt werden und die Lösung bleibt klar. Ist hingegen die ganze verdauende Menge Trypsin durch Antitrypsin neutralisiert, so wird nach dem Verweilen im Brutschrank das nicht verdaute Kasein durch Säurezusatz ausgefällt werden. Diese Probe erfordert: 1. eine Kaseinlösung (1 *g* Kasein wird bei leichter Wärme in 100 cm^3 $n/_{10}$ NaOH gelöst, mit $n/_{10}$ HCl gegen Lackmus neutralisiert und mit physiologischer Kochsalzlösung auf 500 cm^3 aufgefüllt), 2. eine Trypsinlösung (0·5 *g* Trypsin puriss. in 50 cm^3 NaCl-Lösung wird unter Zusatz von 0·5 cm^3 Normalsodalösung gelöst und mit NaCl-Lösung auf 500 cm^3 aufgefüllt), 3. eine Essigsäurelösung (5 cm^3 Essigsäure + 45 cm^3 Alkohol + 50 cm^3 Wasser).

Zur Bestimmung der vollständig lösenden Dosis der Trypsinlösung kommen in 6 Röhrchen steigende Mengen (0·1—0·6 cm^3) Trypsinlösung + 2·0 cm^3 Kaseinlösung. Die Mischung bleibt $1/2$ Stunde im Brutschrank bei 37⁰, worauf jedem Röhrchen etliche Tropfen Essigsäurelösung zugesetzt werden. Das ganz klar bleibende Röhrchen enthält die komplett lösende Trypsindosis. Beim Hauptversuch kommen in jedes Röhrchen 2 cm^3 Kasein + 0·5 cm^3 einer 2%igen Serumverdünnung, ferner steigende Mengen Trypsin, beginnend von der zuerst bestimmten lösenden Dosis, endlich werden durch Zusatz von NaCl-Lösung alle Proben auf das gleiche Volumen gebracht. Nach $1/2$stündigem Aufenthalt im Brutschrank erfolgt der Zusatz einiger Tropfen Essigsäure. Eine dabei entstehende Trübung zeigt die durch das Serum bewirkte Hemmung der Trypsinwirkung an.

Abwehrfermente.

Eine allgemeine Verwendung hat die Bestimmung des Antitrypsins im Blutserum nicht erfahren und gerade bei der

Schwangerschaft ist sie durch das augenblicklich im Vordergrunde des Interesses stehende Dialysierverfahren von Abderhalden verdrängt worden. Wir wollen auf diese Methode hier schon deshalb näher eingehen, weil sie dazu geführt hat, Immunitätsprobleme mehr physiologisch-chemisch zu behandeln, als es bei den bisher besprochenen Reaktionen der Fall war.

Die theoretische Grundlage der Abderhaldenschen Versuche beruht auf der Mobilisierung von Produkten der Zellreaktion, die fermentativen Typus aufweisen, und bestimmt sind, heterogene Substanzen, die in den Organismus eingedrungen sind und dort zirkulieren, zu neutralisieren. Diese Annahme ist zwar nicht neu, sondern eher eine Tochterhypothese der Immunitätslehre, denn auch sie setzt voraus, daß der Organismus auf die Einführung heterogenen Protoplasmas derart reagiert, daß Substanzen erzeugt werden und im Serum auftreten, die eine zerstörende, genauer gesagt fermentative Wirkung auf das antigene Material ausüben. Wie die anderen uns schon bekannten Antikörper des Serums auf das toxische Bakterium eine neutralisierende oder auf das antigene eine agglutinierende Wirkung ausüben, so spalten die „Abwehrfermente“ Abderhaldens das antigene Material derart, daß sie wie spezifische Katalysatoren wirken. Von diesem Gesichtspunkte aus ist daher nichts prinzipiell Neues an dem Vorgange; neu ist hingegen bis zu einem gewissen Grad die weitgehende Ausnützung von rein chemischen Prozessen zur Aufhellung dieser Reaktionen. Die Abwehrfermente Abderhaldens wirken, indem sie das antigene Material, das er Substrat nennt, in einfachere Körper zerlegen; sie zerstören z. B. die Proteine und spalten daraus Substanzen von einfacherem Bau und weniger komplizierter Zusammensetzung ab, die infolgedessen imstande sind, durch die für unzerstörte Proteine undurchlässigen Dialysierröhrchen hindurchzuwandern. Ähnlich werden auch die zusammengesetzten Zuckerarten, wie der Rohrzucker, von den entsprechenden Abwehrfermenten in ihre Bestandteile gespalten, die mittels des Polarimeters bestimmt werden können. Das Vorgehen Abderhaldens soll nun durch folgendes Beispiel illustriert werden:

Bringt man das Blutserum unbehandelter Hunde oder Kaninchen mit Hühner- oder Pferdeeiweiß zusammen, so ist es nicht imstande, irgendeine proteolytische Wirkung in der

Weise auszuüben, daß Spaltungsprodukte frei werden, die durch ein Dialysierröhrchen hindurchtreten könnten; stellt man in einem Dialysierröhrchen einen Verdauungsversuch mit diesem Eiweiß und dem Serum unbehandelter Tiere an, so treten nicht einmal Spuren von Peptonen oder anderen Zerfallsprodukten proteolytischer Natur auf, die mit Eiweißreaktionen, z. B. der Biuretreaktion, nachweisbar wären. Wiederholt man hingegen den Versuch und wendet dabei statt des Blutserums unbehandelter Tiere das von Tieren an, die mit Hühner- oder Pferdeeiweiß vorbehandelt, d. h. immunisiert wurden, so ist das Ergebnis des Versuches ein ganz anderes: in diesem Fall kann man schon nach ganz kurzer Zeit in der umgebenden Flüssigkeit, d. h. in dem destillierten Wasser, in dem das Dialysierröhrchen schwimmt, mittels der Biuretreaktion das Vorhandensein von Peptonen nachweisen; diese sind durch die proteolytische Wirkung jener Abwehrfermente auf das Eiweiß abgespalten worden, die als Folge der Vorbehandlung vom Organismus erzeugt wurden und ins Blut übergetreten sind. Nebenbei muß erwähnt werden, daß diese Spaltungsprodukte auch quantitativ ausgewertet werden können, indem man z. B. das Drehungsvermögen im Polarimeter mißt oder mittels der Kjeldahlschen Methode den Stickstoff des Dialysators bestimmt.

Diese Versuche von Abderhalden weisen darauf hin, daß im Verlaufe der Immunisierung gegen Substrate wie Hühner- oder Pferdeeiweiß sich neben den schon bekannten Antikörpern (Präzipitinen, Substanzen, die in Gegenwart ihres Antigens das Komplement binden usw.) proteolytische Fermente im tierischen Organismus bilden und ins Blut übertreten, die die bei der Vorbehandlung verwendeten Albumine zerstören. Die Spezifität dieser Abwehrfermente ist jedoch viel weniger ausgesprochen als bei den anderen bekannten Antikörpern; die eiweißabbauende Wirkung ist nicht bloß auf das antigene Eiweiß abgestimmt. sondern erstreckt sich auf alle Eiweißsubstanzen überhaupt. Fette und Kohlehydrate hingegen werden von diesen Fermenten, die bei der Immunisierung gegen Eiweiß erzeugt werden, nicht angegriffen; dazu sind andere Fermente notwendig, die im Serum nur nach Einführung von Fetten oder Kohlehydraten auftreten.

In Bezug auf die Spezifität weichen daher die Abwehrfermente von den theoretischen Lehren der Immunitätsforschung

ab, die doch für jede Eiweißart einen eigenen Antikörper annehmen. Ja Abderhalden geht sogar noch weiter: nach seiner Annahme bilden sich z. B. Abwehrfermente nach dem Typus des Invertins auch als Folge der Behandlung mit Rohrzucker, während nach einem Axiom der Ehrlichschen Theorie derartige Substanzen ungeeignet wären, überhaupt eine Bildung von Antikörpern hervorzurufen. Die Produktion von Abwehrfermenten tritt in diesem Fall sogar mit einer solchen Schnelligkeit auf, wie sie bei den Immunitätsreaktionen sonst nicht vorkommt, die sich langsam, im Verlauf von Tagen, doch niemals von Stunden entwickeln. Injiziert man aber Saccharose, so kann man schon nach einer Viertelstunde Saccharase im Blut nachweisen. Diese Abweichungen von den Immunitätsreaktionen sind um so merkwürdiger, als die Abderhaldensche Reaktion unter anderen Gesichtspunkten alle ihre sonstigen Charakteristiken aufweist. Für die Praxis ist das Wichtigste, daß sie sich zu viel genaueren Untersuchungen, als die gewöhnlichen serodiagnostischen Methoden verwenden läßt.

Die Immunitätsreaktionen können bekanntlich zur Serodiagnose bei der Aufsuchung von Antikörpern verwendet werden, deren Bildung gewöhnlich als Folge des Eindringens artfremden Protoplasmas auftritt; so bilden z. B. bei Infektionsreaktionen (Widal, Wassermann) die antagonistischen Substanzen das Untersuchungsobjekt, die im Organismus auftreten, wenn Typhusbazillen oder die Spirochaete pallida, d. h. vollständig fremdes Material in ihn eindringen.

Die Abderhaldenschen Abwehrfermente dagegen treten nicht bloß auf den Reiz von artfremdem Eiweiß hin auf, wie das im obenangeführten Beispiel der Fall ist, sondern bilden sich auch, wenn körpereigene, aber plasmafremde Substanzen aus irgendeinem Grunde in den Kreislauf gelangen. Es treten z. B. jedesmal spezifische Fermente auf, wenn ein Organ vom normalen Stoffwechsel abweichend, Substanzen produziert, die beim Eindringen in den Kreislauf ebenso wirken, wie die im angeführten Beispiel experimentell injizierten. Das theoretisch am leichtesten verständliche und praktisch wichtigste Beispiel bildet die Schwangerschaft, während deren Dauer Proteine aus den Plazentarzotten in den Kreislauf übertreten und Anlaß zur Bildung von Abwehrfermenten geben, die eine eiweißzerstörende Wirkung auf das Plazentareiweiß ausüben. Die

Schwangerschaftsdiagnose.

Schwangerschaftsdiagnose besteht darin, diese Fermente im Blutserum nachzuweisen.

Die Abwehrfermente treten bereits eine Woche nach der Empfängnis auf, so daß auf diese Art eine Schwangerschaftsdiagnose schon zu einer Zeit möglich wäre, wo jede andere Methode noch versagt. Ja, die Abwehrfermente finden sich während der ganzen Gestationszeit im Blute, so daß die Diagnose jederzeit ausgeführt werden kann. Der Wert der Reaktion wird auch dadurch nicht eingeschränkt, daß sie noch eine Zeitlang nach der Geburt vorhanden ist; ein Irrtum ist ja hier ausgeschlossen, wo es genug sichere Mittel zur Erkennung des Puerperiums gibt. Dagegen hält Abderhalden es für vollständig ausgeschlossen, daß das Serum normaler nicht gravider Individuen Plazentargewebe abbauende Fermente enthalten könnte. Wollen wir diese Behauptung Abderhaldens gelten lassen, obwohl sie von gewissenhaften Forschern bestritten wird, so müssen wir doch mit ihm zugestehen, daß die Fehlerquellen, die auch bei normalen Seris positive Reaktionen veranlassen können, derart sind, daß die Technik der Reaktion äußerst kompliziert und schwierig wird. Sie besteht (siehe Figur) darin, daß im Dialysierröhrchen enthaltenes Plazentargewebe im Brutschrank durch die Wirkung der Abwehrfermente, die in jedem Schwangerenserum enthalten sind, abgebaut wird; die Produkte des Plazentareiweißzerfalles treten in die Außenflüssigkeit über, wo sie durch eine Farbenreaktion nachgewiesen werden können.

An Stelle der Biuretreaktion, die eine bei schwacher Reaktion wenig deutliche Violettfärbung ergibt, zieht Abderhalden zur Erkennung der Abbauprodukte die Ninhydrinreaktion vor; diese gibt eine Blaufärbung, die leichter erkennbar ist.

Diese Farbenreaktion ist aber, ebenso wie die Biuretprobe, nicht etwa eine spezifische Erkennungsmethode für die dialysierbaren Produkte, die unter dem Reiz der Schwangernfermente aus der Plazenta austreten; sondern das Ninhydrin ist einfach ein Reagens, das eine Blaufärbung ergibt, wenn es mit irgendeiner Eiweißsubstanz oder deren Spaltungsprodukten im Brutschrank zusammengebracht wird. Daher kann die Abderhaldensche Reaktion nur unter einer Bedingung als spezifisch angesehen werden; wenn nämlich während des ganzen Ablaufes des Versuches das Eindringen irgendeiner anderen Eiweißsubstanz

außer den spezifischen Plazentarabbauprodukten in das Dialysat absolut ausgeschlossen ist. Werfen wir einen Blick auf das Schema, so sehen wir ohneweiters, daß die Eventualität des Eindringens nicht spezifischer Proteine gar nicht so schwer vorstellbar ist. So könnten z. B. das Serum und das Plazentargewebe selbst dialysierbare Albumine enthalten oder es könnten sich solche bilden, wenn das Toluol eine Bakterienverunreinigung nicht verhindern kann; oder es könnten auch ungespaltene Albumine durch das Dialysierröhrchen hindurchtreten, wenn es nicht absolut tadellos ist.

Nach Abderhalden kann jedes Versäumnis an der Reinlichkeit bei allen Manipulationen den Ausfall der Reaktion beeinträchtigen. Es sind bei der Handhabung der Reaktion so viele Vorschriften zu beachten, daß sie, trotz ihrer anscheinenden Einfachheit, schwieriger als z. B. der Wassermann ist. Abderhalden führt in seinen Arbeiten alle Fehlerquellen von der ersten bis zur letzten an und stellt sie eher zu groß als zu gering dar. Die genaue und peinliche Sorgfalt, die Abderhalden bei der Ausführung der Reaktion fortwährend dringend anrät, ist derart, daß sie jeden von dem Versuch abschrecken könnte. Es ist unnötig, alle Fehler anzuführen, es genügt ein einziger, den jeder machen kann, der die Reaktion nicht unter Abderhaldens eigener Leitung ausgeführt hat und der die Anleitung, die über hundert Druckseiten füllt, nicht Punkt für Punkt genau befolgt. Unter den vielen Anweisungen, die der der Technik der Reaktion gewidmete Teil gibt, ist auch diese: man soll sich bei den Manipulationen besonderer Pinzetten bedienen, um zu vermeiden, daß bei direkter Berührung mit den Händen durch ungenügende Reinlichkeit oder infolge von Hautabschilferung ein wenig Eiweiß sich ablöse, das dann eine positive Reaktion auslösen kann. Wenn derartige Vorsichtsmaßregeln bei irgendeiner anderen Eiweißreaktion, etwa im Sputum oder Urin anempfohlen würden, müßte man darüber lächeln. Denn solche und ähnliche Ratschläge haben ein ganz anderes Ergebnis als das von Abderhalden gewollte: sie erzeugen schließlich eine Atmosphäre von Mißtrauen gegen die Reaktion, die der Autor nicht gewünscht haben kann.

Vorarbeiten.

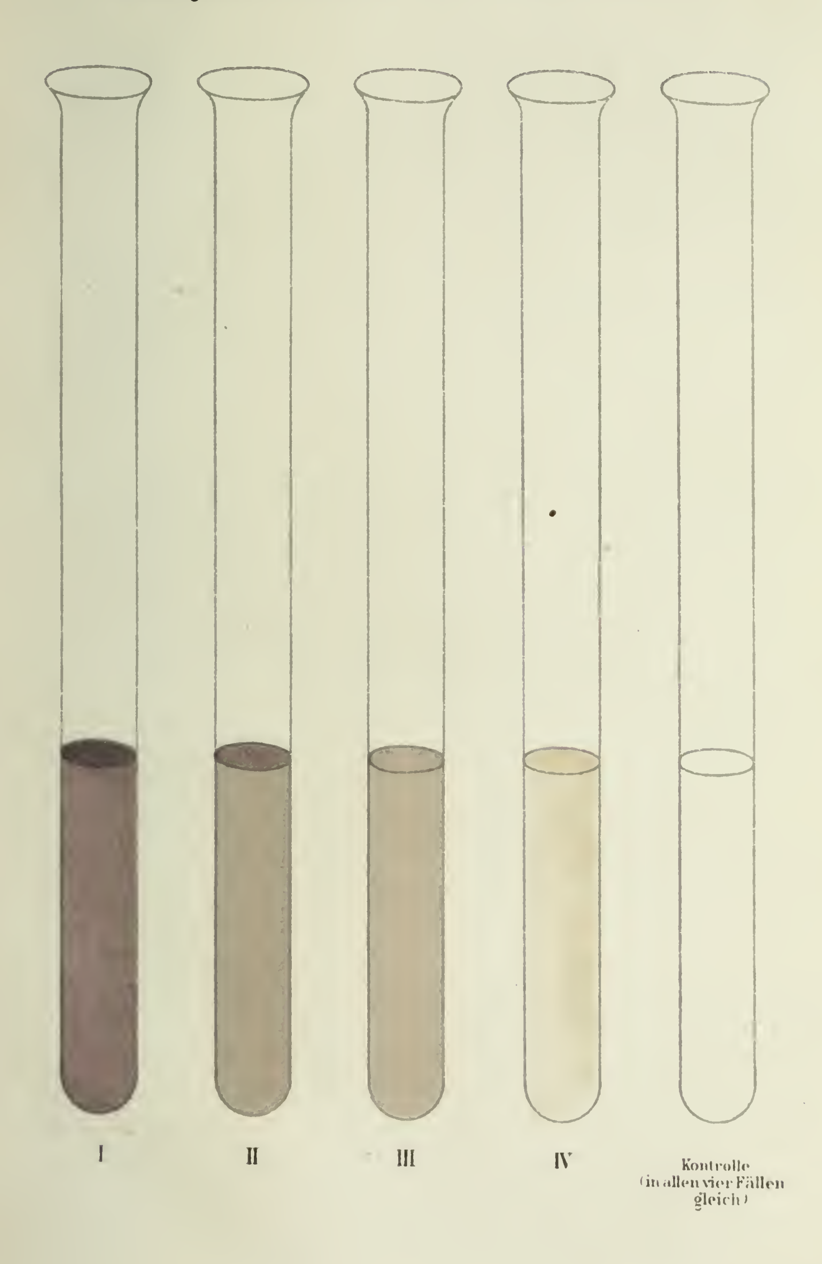
Jedenfalls erheischt also das Dialysierverfahren noch größere Vorsichtsmaßregeln als die übrigen serodiagnostischen Methoden: es erfordert nämlich außer zweckmäßig angelegten

Kontrollproben noch eine Reihe von Vorarbeiten, die etwa den Vorversuchen bei der Wassermannschen Reaktion gleichzustellen wären. Vor allem hat eine richtige Auswahl und sorgfältige Prüfung der Dialysierröhrchen vorauszugehen, welche in ihrer Prüfung auf Undurchlässigkeit für Eiweiß und gleichmäßige Durchlässigkeit für Eiweißabbauprodukte besteht. Dann ist auf die Darstellung des Substrats die größte Sorgfalt zu verwenden, wobei eine möglichst weitgehende Reinigung der Plazenta von Blut, Lymphe, Bindegewebe, Gefäßen und Nerven angestrebt wird, worauf die Koagulation der Eiweißkörper durch Kochen und Entfernung jeder Spur von Substanzen, die mit Ninhydrin eine Farbenreaktion geben, angeschlossen wird. Schließlich folgt die Prüfung der Verwendbarkeit des Substrats, d. h. es wird festgestellt, ob die Plazenta vom Serum von Schwangeren tatsächlich abgebaut, hingegen vom Serum von Nichtschwangeren (Salpingitis, Tumor) nicht angegriffen wird.

Hauptversuch.

Erst nach Beendigung dieser Vorarbeiten kann an die Ausführung des eigentlichen Versuches gegangen werden. Das nötige Blutserum wird in der Weise gewonnen, daß man das Blut in nüchternem Zustande entnimmt und jede Beimischung von Hämoglobin und Formelementen (durch sorgfältiges Zentrifugieren) entfernt. Unmittelbar vor Anstellung der Proben hat dann wieder die Nachprüfung des Substrates auf vollständiges Fehlen von mit Ninhydrin reagierenden Stoffen stattzufinden. Erst jetzt darf der eigentliche Versuch angesetzt werden, indem man das zu untersuchende Serum ($1-1{\cdot}5\ cm^3$) in einem Dialysierröhrchen unter Toluol auf $^1/_4-^1/_2\ g$ Substrat (Plazenta) bei 37^0 zirka 16 Stunden lang einwirken läßt, wobei die etwaigen Abbauprodukte in die Außenflüssigkeit (destilliertes sterilisiertes Wasser) übergehen, in der sie dann durch die Blaufärbung mit Ninhydrin nachgewiesen werden. Daneben ist ein Kontrollversuch mit Serum allein ohne Substrat anzustellen, um auszuschließen, daß schon das Serum an und für sich an die Außenflüssigkeit mit Ninhydrin reagierende Stoffe abzugeben vermag; sollte dies der Fall sein, so kann entweder die Intensität der Färbung eine Entscheidung ermöglichen, oder es wird der Hauptversuch wiederholt, nachdem das Serum durch Vordialyse gegen $0{\cdot}9\,^0/_0$ige Kochsalzlösung von diesen Substanzen befreit worden ist. Zweckmäßig ist es, noch einen Versuch mit durch einstündiges Erwärmen auf 58^0 inaktiviertem Serum und

Ninhydrinreaktion nach Abderhalden.



Lith. Anst. Th. Bannwarth, Wien.

Verlag von J. Šafář in Wien u. Leipzig.



Substrat mitlaufen zu lassen, der negativ ausfallen muß, da das Abwehrferment, ähnlich wie das Komplement, durch die Hitze seine Wirkung verliert, um sie durch Zusatz von frischem Serum wieder zu gewinnen. Kontrollproben mit sicher positiv reagierendem Gravidaserum und mit negativem Normalserum sind bei zweckmäßiger Konservierung des Substrates nicht nötig, da diese Prüfung im Vorversuche stattgefunden hat; sie bieten aber, wie wir es von der Komplementablenkung bei Rotz und von der Wassermannschen Reaktion her wissen, ein bequemes Vergleichsobjekt, welches für die richtige Ausführung und Beurteilung der Untersuchung bürgt.

Ninhydrinprobe.

Die Prüfung der Dialysate mit Ninhydrin erfolgt stets in der Weise, daß man von jedem Kölbchen 10 cm^3 der Außenflüssigkeit mittels einer sauberen trockenen Pipette in ebensoviele gleich weite, absolut reine und trockene Reagensröhrchen überträgt, in die man vorher je 0·2 cm^3 einer 1%igen Ninhydrinlösung gebracht hat; nach Eintauchen je eines trockenen Siedestabes kocht man eine Probe nach der anderen gleichmäßig eine volle Minute. Nach einer halben Stunde wird festgestellt, welche Proben eine Färbung aufweisen und welche nicht. Gewöhnlich bereitet das Ablesen der Resultate keine Schwierigkeit. Ist sowohl die Probe mit Dialysat des Serums allein als jene mit Serum und Substrat farblos, dann ist die Reaktion negativ, hingegen positiv, wenn letztere Blaufärbung aufweist, erstere nicht oder zumindest ein erheblicher Farbenunterschied besteht. Wenn aber bloß geringe Differenzen in der Intensität konstatiert werden, dann ist der Versuch unbedingt mit weniger Serum oder nach erfolgter Vordialyse desselben mit 0·9%iger physiologischer NaCl-Lösung zu wiederholen. In nebenstehender Tafel VI sind vier positive Ninhydrinreaktionen von verschiedener Stärke und eine Kontrolle dargestellt.

Diagnostische Verwertung.

Selbstverständlich berechtigt eine positive Reaktion nicht ohneweiters zu der Diagnose Schwangerschaft, sondern bedeutet einfach, daß Abwehrfermente für Plazenta im betreffenden Serum vorhanden sind, die ebensogut durch eine bestehende wie durch eine vor ein paar Wochen abgelaufene, mit Abortus, Frühgeburt oder normaler Geburt beendete Schwangerschaft oder auch durch ein Chorionepitheliom bedingt sein können. Ein negativer Ausfall der Probe führt bei Ausschluß von technischen Fehlern zur Verneinung der Frage, ob Schwangerschaft vorliegt.

Technik.

Es folgt aus unseren Ausführungen ohneweiters, daß der praktische Wert der Abderhaldenschen Reaktion durchaus von der Beherrschung ihrer Technik abhängt. Vor allem erfordert die Eichung der Dialysierröhrchen die größte Sorgfalt. Als die besten Röhrchen erwiesen sich die von Schleicher und Schüll, Düren, Rheinland. Sie werden durch halbstündiges Einlegen in kaltes Wasser aufgeweicht und dann stets naß aufbewahrt. Zur Prüfung auf Undurchlässigkeit für Eiweiß werden die Röhrchen mit Hilfe geeichter Auslaufpipetten (es sind stets solche mit tiefer Marke zu verwenden!), mit 5 cm^3 einer 20%igen Eiereiweiß- oder Blutserumlösung beschickt: die Einfüllung erfolgt, indem man die Pipette tief in den Schlauch einführt; da trotzdem die Gefahr besteht, daß etwas Eiweiß im oberen Teile der Röhrchen hängen bleiben kann, so verschließt man nach der Einfüllung mittels einer Pinzette die Hülsen oberhalb der eingeführten Lösung, spült mit destilliertem Wasser die Außenseite und den ober der Sperre liegenden Teil der Innenseite aus und entfernt schließlich das Wasser durch langsames Vorwärtsschieben der Sperre gegen den offenen Teil der Hülsen. Nun stellt man die Hülsen in Erlenmeyerkölbchen (siehe Fig. 24), die mit 20 cm^3 sterilisierten destillierten Wassers beschickt sind, überschichtet Hülseninhalt und Außenflüssigkeit zur Vermeidung von Fäulnis mit einer zirka ½ cm hohen Schicht Toluol, bedeckt die Kölbchen mit Glasplatten und dialysiert 16 Stunden lang bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank. Die Prüfung auf Eiweiß in der Außenflüssigkeit erfolgt mit der Biuretreaktion: es werden mittels ebensovieler sauberer trockener Pipetten je 10 cm^3 des Dialysates in Reagensgläser aus Jenaer Glas übertragen, zu jeder Probe zirka 2·5 cm^3 33%iger Natronlauge (reinstes NaOH verwenden! Kontrollprobe mit destilliertem Wasser + Natronlauge + Kupfersulfatlösung!) hinzugefügt und nach dem Mischen durch Hin- und Herbewegen mit einer Pipette vorsichtig mit je 1 cm^3 einer ½‰igen Kupfersulfatlösung überschichtet. Wenn nach einer ½ Stunde die Grenzschicht im Vergleich zur Kontrollprobe die geringste Spur von Violett- bis Rosafärbung zeigt, so ist die betreffende Hülse, als für Eiweiß durchlässig, zu verwerfen. Die Hülsen, welche diese Probe bestanden haben, prüft man nun auf gleichmäßige Durchlässigkeit für Eiweißabbauprodukte. Zunächst findet eine gründliche Reinigung derselben statt, indem man sie auf ein mit einem Filtriertuch bedecktes Sieb bringt, zirka 1 Stunde lang in fließendem Wasser wäscht, dann mit destilliertem Wasser gut nachspült, worauf man sie für höchstens ¼ Minute in siedendes destilliertes Wasser wirft, um sie zuletzt auf Fließpapier zu trocknen. Jetzt erst beginnt die Prüfung auf Durchlässigkeit mittels zweier Seidenpeptonlösungen (Seidenpepton Höchst), einer 1- und einer 0·5%igen, die mit Ninhydrin positiv reagieren sollen: man füllt in die Hülsen 5 cm^3 der Peptonlösung, spült

Eichung der Dialysierröhrchen.

Prüfung auf Undurchlässigkeit für Eiweiß.

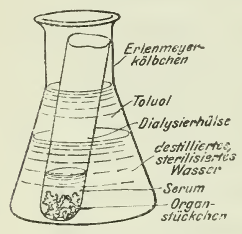


Fig. 24.

Aus Abderhaldens Abwehrfermente (Verlag Springer, Berlin).

Abderhaldens Reaktion.

mit Wasser ab, stellt sie in je ein mit 20 cm^3 sterilisierten destillierten Wassers beschicktes Erlenmeyerkölbchen, überschichtet mit Toluol und dialysiert nach dem Bedecken mit Glasplatten zirka 16 Stunden im Brutschrank. Zum Nachweis der Eiweißabbauprodukte verwendet man statt der Biuretreaktion das besser geeignete Ninhydrin als Reagens. Man bereitet eine 1%ige Lösung davon, indem man den Inhalt der im Handel befindlichen Röhrchen, die 0·1 Ninhydrin enthalten, in einen Meßkolben von 10 cm^3 leert, mit destilliertem sterilisiertem Wasser bis zur Marke auffüllt und in den Brutschrank stellt, um die Auflösung zu beschleunigen. Nun verteilt man mit einer kapillaren Pipette von 1 cm^3 Inhalt auf eine der Zahl der Versuche entsprechende Anzahl Reagensgläser je 0·2 cm^3 der Lösung, dann mittels Pipetten von 10 cm^3 je 10 cm^3 der einzelnen Dialysate, gibt in destilliertem Wasser ausgekochte und trocken aufbewahrte Siedestäbe dazu und kocht eine Probe nach der anderen gleichmäßig 1 Minute lang, vom ersten Auftreten der Gasblasen an der Wand ab gerechnet. Das Kochen geschieht am besten so, daß man das Reagensglas zuerst mittels eines Halters mitten in die kräftige Flamme eines Bunsenbrenners hält, dann, wenn nach 10—15 Sekunden lebhaftes Sieden eingetreten ist, an den Rand der Flamme führt und in halber Flammenhöhe ununterbrochen lebhaft weiterkochen läßt, bis die Minute um ist. Die Reagensgläser kommen nun in ein Gestell, die Siedestäbe werden entfernt. Nach einer ½ Stunde vergleicht man die Intensität der Blaufärbung bei den einzelnen Proben und behält bloß jene Hülsen, welche eine mittlere Färbung ergaben, vorausgesetzt, daß bei diesen die Versuchsreihe mit 0·5% Peptonlösung nicht allzu schwach ausgefallen ist; denn nur solche Hülsen sind für Eiweißabbauprodukte gleichmäßig durchlässig. Die Hülsen werden nun gründlich ausgespült, 15 Minuten in kochendes Wasser getaucht und dann in eine sterilisierte Flasche gebracht, wo sie gebrauchsfertig in sterilem Wasser unter Toluol aufbewahrt werden; sie dürfen während aller Manipulationen nur mit einer sterilen Pinzette berührt werden.

Nachweis des Abbaues durch Ninhydrin.

Auslese der Hülsen.

Die ganz frische, noch warme Plazenta wird zunächst mechanisch von anhaftendem Blutgerinnsel befreit und die Eihäute und die Nabelschnur entfernt. Die Entblutung erfolgt entweder durch Durchleiten 0·9%iger Kochsalzlösung von den Nabelgefäßen aus und Nachspülen mit destilliertem Wasser oder in folgender Weise: Man zerschneidet die Plazenta in kleine Stücke und quetscht diese in fließendem Leitungswasser entweder mit der Hand oder derart aus, daß man sie mit einem Filtriertuch auspreßt; dann entfernt man die Gefäße, Nerven und Bindegewebe, zerreibt das Gewebe in einer Reibschale und preßt es zuletzt durch ein Sieb, welches die letzten Bindegewebsanteile zurückhält. Der ganze Prozeß soll in 1—3 Stunden zu Ende geführt werden. Man kocht nun das auf solche Weise schneeweiß gewordene Gewebe in einem Emailtopf mit der 100fachen Menge destillierten Wassers (Zusatz von 1—2 Tropfen Eisessig pro Liter Wasser) ½ Stunde lang, gießt das Kochwasser ab, spült das Gewebe zirka 5 Minuten gründlich mit destilliertem Wasser und wiederholt dann das Kochen 10 Minuten lang mit destilliertem Wasser (ohne Eisessig). Die Prozedur des Abgießens des

Darstellung des Substrates.

Kochwassers, Abspülens des Gewebes und des erneuten Kochens wird sechsmal hintereinander wiederholt. Nach der sechsten Auskochung wird das Substrat auf ein Sieb und von diesem in eine Schale gebracht, wo die größeren Stücke bis zu höchstens Linsengröße zerzupft werden. Nunmehr ist festzustellen, daß keine Spuren mehr von auskochbaren, mit Ninhydrin eine Farbenreaktion gebenden Substanzen im Substrat vorhanden sind: zu diesem Zwecke kocht man das Substrat mit höchstens der fünffachen Menge Wassers 5 Minuten lang energisch, filtriert etwas vom Kochwasser durch ein trockenes gehärtetes Filter und kocht 5 *cm*³ des Filtrats 1 Minute lang mit 1 *cm*³ der 1⁰/₀igen Ninhydrinlösung, wobei auch nicht die geringste Violettblaufärbung nach ½ Stunde wahrnehmbar sein darf; andernfalls muß das Kochen wiederholt werden. Das Organ ist nun gebrauchsfertig und wird sofort in eine sterile Flasche mit eingeschliffenem Stöpsel gebracht, ein wenig sterilisiertes destilliertes Wasser und viel Toluol nachgegossen, bis der Stöpsel in die Flüssigkeit taucht.

Ganz besonderen Wert legt Abderhalden darauf, daß die Gegenwart auch bloß von Spuren mit Ninhydrin reagierender Stoffe im Substrat ausgeschlossen sei. Er empfiehlt deshalb dringend, die 5- bis 10fache Menge (2—3 *g*) der zum eigentlichen Versuch nötigen Quantität des Substrats mit möglichst wenig (etwa 5 *cm*³) destilliertem Wasser 16 Stunden bei 37⁰ zu digerieren, heiß zu filtrieren und die vereinigten Filtrate, nach Einengung auf etwa 1 *cm*³, mit 1 *cm*³ Ninhydrinlösung zu kochen; es darf dabei keine Färbung eintreten. Diese Probe hat den Zweck, die Zuverlässigkeit des Substrates zu sichern und zu vermeiden, daß unter Umständen durch Summation von unter der Schwelle der Ninhydrinreaktion stehenden Spuren der in Frage kommenden Verbindungen eine positive Reaktion vorgetäuscht werden könne.

Prüfung der Verwendbarkeit des Substrates.

Die Prüfung auf abbaufähige Substanz geschieht, indem man mehrere Dialysierversuche des Substrates mit Serum von schwangeren und nichtschwangeren Individuen samt den Kontrollen mit Serum allein in der auf der folgenden Seite 229 angegebenen Weise ansetzt. Ferner macht man einen Versuch mit inaktiviertem Serum + Plazentagewebe. Entscheidend für die Brauchbarkeit des Substrates ist der Übertragungsversuch, welcher darin besteht, daß ein und dasselbe Plazentastückchen zuerst mit Serum von einer Schwangeren, nach gründlichem Abspülen und Auskochen mit normalem Serum und dann wieder mit Gravidaserum angesetzt wird: es soll im ersten und dritten Fall eine positive, im zweiten Fall eine negative Reaktion erzielt werden.

Gewinnung des Blutes.

Das Blut (15—20 *cm*³) wird in der im vorigen Kapitel erwähnten Weise entnommen; das Serum läßt man bei Zimmertemperatur sich abscheiden. Das Serum ist 5—10 Minuten lang zu zentrifugieren, um es von den roten Blutkörperchen ganz zu befreien; sonst kann im Laufe der Versuche Hämolyse eintreten, die den Gang der Untersuchung stört.

Technik des Versuches.

Bei der Ausführung eines Dialysierversuches ist für peinlichste Sauberkeit, Anwendung von sterilisiertem destilliertem Wasser, aseptisches Arbeiten in einem eigenen Raume mit eigenem Brutschranke, sowie gute Beleuchtung Sorge zu tragen. In dem folgenden Schema sind

die nötigen Vorarbeiten und die Ausführung eines Versuches nach Abderhalden zusammengestellt.

Vorarbeiten.

1. Eichung der Dialysierröhrchen.
2. Prüfung auf Undurchlässigkeit für Eiweiß.
3. Prüfung auf gleichmäßige Durchlässigkeit für Eiweißabbauprodukte.
4. Darstellung der Plazenta.
5. Prüfung der Plazenta:
   a) durch die Einengungsprobe.
   b) mit Schwangerenserum.
   c) mit Nichtschwangerenserum.

Eigentlicher Versuch.

Nachprüfung der Plazenta.

1. { Zu untersuchendes Serum + Plazenta.
Zu untersuchendes Serum allein.
2. { Schwangerenserum + Plazenta,
Schwangerenserum allein.
3. { Nichtschwangerenserum + Plazenta.
Nichtschwangerenserum allein.
4. { Inaktiviertes Serum + Plazenta.
Inaktiviertes Serum allein.

Der eigentliche Versuch wird mit der Prüfung der Plazenta eingeleitet, indem man die Menge des Gewebes, die zu den Proben gebraucht wird, zerzupft, mit der fünffachen Menge Wassers 5 Minuten kocht, filtriert und das Filtrat mit 1 cm^3 der 1%igen Ninhydrinlösung prüft. Zeigt sich dabei eine Blaufärbung, dann muß das Substrat so oft mit der fünffachen Menge destillierten Wassers kochen, bis die Probe negativ wird. Dann setzt man die Versuche in der Weise an, daß man so viele geeichte Dialysierröhrchen als nötig (in unserem Falle sechs) in leere trockene Erlenmeyerkölbchen bringt; drei davon werden mit zirka $\frac{1}{4}-\frac{1}{2}$ *g* des Substrates (Plazenta) beschickt, welches vorher auf Fließpapier leicht ausgepreßt und dann auf den Boden des Röhrchens gelegt wird; nun kommen zuerst in diese Röhrchen und dann auf den Boden der drei leeren je 1—1·5 cm^3 der verschiedenen Sera, wie aus dem Schema ersichtlich ist. Der stets wünschenswerte Kontrollversuch mit inaktiviertem Serum wird in gleicher Weise angesetzt. Nun spült man die Röhrchen gründlich ab und verfährt weiter wie Seite 226 angegeben, d. h. überträgt sie in mit 20 cm^3 destillierten sterilisierten Wassers beschickte Erlenmeyerkölbchen, um schließlich nach Überschichtung mit Toluol und 16stündigem Verweilen derselben im Brutschrank an die Prüfung der Dialysate mit Ninhydrin nach auf Seite 227 stehender Vorschrift zu gehen. Dazu entfernt man die Röhrchen, indem man sie in ebensoviele leere Kölbchen stellt, überträgt mit Hilfe von Pipetten die erforderlichen 10 cm^3 der Dialysate in ebenso viele trockene, saubere, gleichweite Reagensröhrchen, in die man vorher 0·2 cm^3 der 1%igen Ninhydrinlösung gebracht hat, kocht dann nach Einführung der Siedestäbe jede Probe eine volle Minute und vergleicht nach $\frac{1}{2}$ Stunde die Färbungen in den verschiedenen Reagensgläsern. Der Ausfall der Reaktion ist dann leicht zu beurteilen.

Vordialyse des Serums.

In den seltenen Fällen, in denen das Serum allein schon genügend dialysierbare Stoffe enthält, um eine positive Reaktion zu geben, dialysiert man am besten 4—5 cm^3 des Serums 6—7 Stunden lang gegen 0·9%ige Kochsalzlösung, und wiederholt dann den Versuch nach der Vorschrift.

Wir haben die technischen Details deshalb so eingehend berücksichtigt, weil ein richtiger Ausfall der Probe bloß bei peinlichem Einhalten der Abderhaldenschen Vorschriften zu erwarten ist. Das Dialysierverfahren ist keine Methode, die flüchtiges Arbeiten gestattet; aber auch bei exakter Ausführung der Versuche darf das Ergebnis in keinem Falle für die Diagnose allein entscheidend sein. Die große Bedeutung des Verfahrens liegt vielmehr darin, daß die Abwehrfermente ganz allgemein als Reagentien auf den charakteristischen typischen Bau der Bestandteile bestimmter Zellarten die Möglichkeit der Feststellung von Organstörungen mittels des Nachweises dieser Fermente bieten, die sonst im Blutplasma sich nicht finden. Niemals wird jedoch, wie Abderhalden selbst mahnt, auf der gegebenen Basis eine wahre, echte Serodiagnostik der Organfunktionen möglich sein. Über die Grenzen der praktischen Verwertbarkeit des Verfahrens ist das letzte Wort noch nicht gesprochen. Wie auch immer dieses lauten mag, auf jeden Fall ist durch die Einführung physiologisch-chemischer Methoden in die Serologie eine neue Brücke zwischen Physiologie und Immunitätsforschung geschlagen, die bisher einander allzufern geblieben sind.

Elftes Kapitel.

Anaphylaxie.

Richets Aktinokongestin. — v. Pirquets beschleunigte Reaktion. — Pollentheorie bei Heufieber. — Tuberkulin. — Ophthalmo- und Kutanreaktion. — Überempfindlichkeitsreaktion bei Syphilis — beim Typhus — bei Diphtheritis. — Überempfindlichkeitsreaktion in der Veterinärpraxis. — Mallein. — Abortin.

Das Eindringen heterogenen antigenen Materials in den Organismus ruft, wie ich schon erwähnt habe, unter gewissen Umständen das Gegenteil eines Immunitätszustandes hervor, wodurch der Organismus gegen die antigene Substanz überempfindlich, anaphylaktisch (φυλάξω = ich schütze, ἀνά = entgegengesetzt) wird.

Anaphylaxie.

Mehr infolge eines ähnlichen Wortklanges als wegen theoretischer Analogien denkt man an die neue Bezeichnung Kataphylaxie oder Aphylaxie, die W. E. Bulloch und W. Tramer vorgeschlagen haben, um die Veränderungen der organischen Abwehrmechanismen zu bezeichnen, durch welche irgendwie in den Organismus eingeführte, ionisierbare Kalksalze das toxisch-infektive Vermögen gewaschener Tetanus- und Gasbrandbazillen wiedererwecken, die sonst allein, ohne diesen Zusatz in dieser Form schleunigst eine Beute der Bakterienauflösung und der Phagozytose geworden wären. Dieselbe Bezeichnung, wie auch das Wort Epiphylaxie oder Ekphylaxie wendet A. E. Wright auch an, um das normale und durch die Vakzinotherapie verstärkte Abwehrvermögen des Organismus gegen die bakteriellen Infektionen zu bezeichnen.

Die Reinjektion von Pferdeserum ist, wie wir gesehen haben, bei Tieren von charakteristischen anaphylaktischen Erscheinungen gefolgt (Phänomene von Arthus und Theobald Smith) und beim Menschen vom frühzeitigen und heftigen Auftreten der Serumkrankheit.

Die durch Einführung von antigenem Material ausgelöste Umstimmung des Organismus äußert sich statt in einer Resistenzerhöhung gegenüber dem jeweiligen Antigen vielmehr in

einer Resistenzverminderung, die bei Verabreichung von sonst langsam wirkenden Substanzen in einem beschleunigten Krankheitsverlaufe und in einer Herabdrückung der letalen Dosis, bei sonst indifferenten Körpern in dem Auftreten von Temperatursturz und lokalen, sowie allgemeinen Erscheinungen bemerkbar wird.

Richets Aktinogestin.

Den Anaphylaxiestudien liegt nämlich die Beobachtung des französischen Physiologen Richet zugrunde, daß das aus den Tentakeln von Aktinien gewonnene Aktinokongestin, welches bei Hunden Erbrechen, Diarrhöen und den Tod erst nach einem längeren Latenzstadium hervorzubringen vermag, bei vorbehandelten Tieren dieselben Wirkungen fast momentan und schon nach geringeren Dosen auslöst.

Beschleunigte Reaktion bei der Revakzination.

Eine ähnliche Umstimmung des Organismus wird auch nach v. Pirquet bei der Schutzpockenimpfung geschaffen: sie erklärt uns die Verschiedenheiten des Reaktionstypus, den Revakzinierte im Vergleich zu Erstgeimpften darbieten, wenn Papelbildung und sonstige Erscheinungen beschleunigt auftreten.

Auf die Serumkrankheit, sowie auf die Phänomene von Smith und Arthus, die beide auf das Auftreten von lokalen und allgemeinen Erscheinungen bei Reinjektion von bei der ersten Einspritzung unschädlichem Serum zurückzuführen sind, wollen wir hier nicht wieder eingehen, sondern verweisen diesbezüglich auf die Ausführungen im dritten Kapitel. Die Anaphylaxie gestattet auch eine sehr plausible Deutung der Idiosynkrasien überhaupt, speziell des Heuschnupfens oder Heufiebers, welche nach der Pollentheorie auf einer Umstimmung des Organismus gegenüber besonderen Pollengiften beruhen sollen; tatsächlich gelingt es mit Pollenstaub, welcher auf der Schleimhaut normaler Individuen keinerlei Erscheinungen auslöst, bei Heufieberkranken einen typischen Anfall hervorzurufen.

Pollentheorie bei Heufieber.

Das Bronchialasthma als klinische Erscheinung der Anaphylaxie.

Zu den anaphylaktischen Erscheinungen gehören noch andere Krankheiten, wie z. B. außer dem angioneurotischen Ödem, akuten Gastroenteritiden, gewisse Arthropathien, die Epilepsie; besondere Erwähnung verdient das Bronchialasthma. Auf Grund der Veränderungen, die der Zustand der Anaphylaxie im Bereich der Bronchialmuskeln hervorruft, kam man per analogiam auf den Gedanken, das Asthma sei eine anaphylaktische Erscheinung. Tatsächlich konnte man die zuerst sensibilisierende und weiterhin auslösende Wirkung einiger heterogener Proteine

feststellen, die die ursprüngliche Ursache des Asthmas zu sein scheinen (Sabatini).

Anwendung in der gerichtlichen Medizin.

Die Spezifität dieser anaphylaktischen Reaktionen geht so weit, daß das Serum oder das Blut einer Tierspezies eine deutliche Überempfindlichkeit ausschließlich gegen das Blut und die Proteine, die von derselben Tierspezies stammen, hervorruft. Deswegen wurde auch ihre Anwendung in der gerichtlichen Medizin zur Unterscheidung zwischen Menschen- und Tierblut vorgeschlagen. Meerschweinchen, denen man den wässerigen Extrakt eines Fleckes von Menschenblut einspritzt, zeigen nur dann das klassische Bild der Anaphylaxie, das zuerst durch Unruhe und Pruritus, später durch Asthenie und Konvulsionen, oft mit tödlichem Ausgang, charakterisiert ist, wenn zur zweiten Injektion menschliches Serum verwendet wird; im Gegensatz dazu bewirkt die zweite Injektion mit heterologem Serum, das ist Serum einer Tierspezies, die der den Blutfleck liefernden artfremd gegenübersteht, höchstens eine flüchtige Nachwirkung. Das Auftreten des Krankheitsbildes der Anaphylaxie gestattet also einen Schluß auf die Natur des Blutfleckes, insoferne als man auf die subkutane Injektion verschiedener Sera hin bei den mit dem Extrakt des betreffenden Blutfleckes behandelten Meerschweinchen nur dann schwere anaphylaktische Erscheinungen beobachten wird, wenn man das dem Blute des Fleckes entsprechende Serum injiziert; der Blutfleck wird also von der Tierspezies stammen, deren Serum imstande ist, das plötzliche Auftreten des vollständigen Bildes der Anaphylaxie zu verursachen.

Verwertung zu Studienzwecken.

Die anaphylaktische Reaktion bildet wegen ihres spezifischen Charakters eine allgemeine serodiagnostische Untersuchungsmethode. Sie kann z. B. zur Identifizierung bakterieller Antigene dienen, weil der anaphylaktische Shock bei Meerschweinchen, die mit Typhusbazillen vorbehandelt wurden, nur dann auftritt, wenn man zur zweiten Injektion (nach 20 bis 25 Tagen) Typhusextrakte verwendet, während er bei Extrakten anderer auch nahe verwandter Keime, wie des Paratyphus, fehlt. So versuchte man u. a. auch zur Diagnose des Magenkrebses durch geeignete Antigene bei Versuchstieren einen spezifischen anaphylaktischen Zustand gegen karzinomatösen Magensaft zu schaffen.

Praktische Anwendung

Aber jede serodiagnostische Methode hat ihren Wirkungskreis, innerhalb dessen sie ihre schönsten Erfolge erntet. So feiern

die Bakteriolyse und die Agglutination ihre größten Triumphe bei der Diagnose der intestinalen Formen, beim Typhus, den Koliinfektionen, der Dysenterie, der Cholera; die Präzipitine geben die besten Resultate bei den gerichtlich-medizinischen Untersuchungen und der Milzbranddiagnose; die Komplementbindung ist die bevorzugte Methode bei der Serodiagnose der Syphilis. Die Anaphylaxie hingegen hat wohl auch in hervorragendem Maße zur Aufklärung des Krankheitsbildes des Heufiebers beigetragen, aber ihre größten Erfolge hat sie namentlich bei Tuberkulose und Rotz errungen.

bei der Tuberkulose.

Die Ansiedlung der Tuberkelbazillen erzeugt nämlich in dem infizierten Individuum einen Zustand der Anaphylaxie, der Überempfindlichkeit, infolgedessen er auf Einführung eines Tuberkelbazillenextraktes mit einer sehr deutlichen Reaktion antwortet, während tuberkulosefreie Individuen auch größere Dosen ohne irgendeine Nachwirkung vertragen. Daher konnte das Kochsche Tuberkulin, das schon in den ersten Zeiten der modernen Immunitätsforschung subkutan injiziert wurde, sich eine hervorragende Bedeutung als diagnostisches Mittel bei tuberkulösen Prozessen verschaffen, weil es in genau bestimmten Dosen bei Tuberkulösen Temperatursteigerung, allgemeine Abgeschlagenheit, Schwere in den Gliedern und andere Symptome hervorruft, die zur Bestätigung der Diagnose dienen, wofern nur bei der Tuberkulinprobe gewisse Vorsichtsmaßregeln eingehalten werden.

Ophthalmo- und Kutanreaktion.

Einfacher und leichter ausführbar sind die neueren Methoden der Impfung mit Tuberkulin in die Haut nach v. Pirquet, der Einträufelung in den Konjunktivalsack nach Wolff-Eisner und Calmette und der Salbenreaktion nach Moro-Doganoff. Die Ophthalmo- und die Kutanreaktion haben vor den Tuberkulininjektionen den Vorteil, daß sie ohne Zeitversäumnis ambulatorisch vorgenommen werden können und daß der positive oder negative Ausfall durch einfache Inspektion beurteilt werden kann. Die notwendigen Tuberkulinlösungen werden nunmehr auch schon in den gewünschten Konzentrationen in den Apotheken vorrätig gehalten (Tafel VII).

Technik.

Zur Kutanreaktion braucht man nur eine gewöhnliche Impflanzette, mit der man an der Beugeseite des Vorderarmes im Abstand von je 3 *cm* drei leichte Skarifikationen macht, die nicht bluten sollen; man gibt auf die beiden äußeren je einen Tropfen einer 25%igen oder noch besser

Ophthalmoreaktion.



positive Reaktion Kontrolle

Kutanreaktion.



positive Reaktion Kontrolle

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Nach Wolff-Eisner: Frühdiagnose und Tuberkulose Immunität. 2. Aufl.

Verlag von J. Šafář in Wien u. Leipzig.



einer ganz unverdünnten Tuberkulinlösung, während die mittlere als Kontrolle dient. Bei tuberkulösen Individuen beobachtet man nach 24 bis 72 Stunden das Auftreten kleiner Papeln von 5—20 *mm* Durchschnitt an der Impfstelle, während an der Kontrollstelle nur der Kratzeffekt zu sehen ist; man pflegt jede Rötung und Schwellung von mehr als 5 *mm* Durchmesser, die sich merklich von der Kontrollstelle unterscheidet, als positive Reaktion anzusehen.

Die Konjunktivalreaktion ist noch einfacher, darf und kann aber nicht an Patienten mit Konjunktivitis ausgeführt werden; sie besteht in der Einträuflung einer 1%igen Tuberkulinlösung, die in Kapillarröhrchen geliefert wird, in den Konjunktivalsack. Das positive Ergebnis zeigt sich innerhalb 5—48 Stunden in Form einer Rötung und Schwellung der Konjunktiva mit seröser oder eitriger Sekretion an dem behandelten Auge gegenüber dem andern, das man zur Kontrolle benützt.

Die Salbenreaktion nach Moro und Doganoff besteht in der Verreibung einer 50%igen Tuberkulinlanolinsalbe in die Haut, wobei es bei tuberkulösen Individuen zu knötchenförmigen, papulösen Effloreszenzen kommt. Die Salbe wird auf 25° erwärmt und davon ein erbsengroßes Stück auf einer kleinen Stelle der Bauch- oder Brusthaut eine Minute lang verrieben. Über den diagnostischen Wert der Reaktion bestehen verschiedene Meinungen.

Die allgemeinen und lokalen entzündlichen Reaktionen, die Temperatursteigerungen im Gefolge der subkutanen Injektion, die Konjunktivitis bei der Ophthalmoreaktion, die Papel bei der Kutanreaktion sind wohl anaphylaktische Erscheinungen, welche dem Zusammentreffen des Tuberkulins mit dem im Organismus vorhandenen Antituberkulin zuzuschreiben sind, wobei infolge der Wirkung lytischer, im tuberkulösen Organismus vorgebildeter, spezifischer Antikörper Substanzen mit irritierender Wirkung aus dem Tuberkulin frei werden.

Laboratoriumsversuche.

Die Tierversuche zeigen denn auch, daß die Behandlung mit Kulturen oder Extrakten von Tuberkelbazillen die Tiere überempfindlich sowohl gegen die Reinjektion mit Tuberkelbazillen als auch gegen die Reinjektion mit Tuberkuloseextrakten macht, so daß sie auf Tuberkulin mit allgemeinen und lokalen Erscheinungen reagieren. Der positive Ausfall der Tuberkulinreaktionen gestattet uns dementsprechend den Schluß, daß es dem Tuberkelbazillus kürzere oder längere Zeit vor der Probe gelungen sein muß, in den Organismus einzudringen und seine Reaktionsfähigkeit auf das tuberkulöse Virus umzugestalten.

Klinische Bedeutung.

Die Kutanreaktion zeigt eine solche Empfindlichkeit, daß sie auch bei Individuen mit geheilten, klinisch als erloschen zu betrachtenden tuberkulösen Herden positiv ausfällt, wenn auch

mit einer gewissen Verzögerung; sie sollte daher nur auf die Anwendung bei Kindern beschränkt bleiben, da die diagnostische Bedeutung bei Erwachsenen durch den positiven Ausfall auch bei klinisch Geheilten beeinträchtigt wird. Dazu kommt, daß die Ophthalmoreaktion bei Kindern weniger ratsam ist, weil bei ihnen leicht intensive und mannigfache Reaktionen auftreten, die den Anlaß zu diagnostischen Irrtümern geben können. Hingegen ist die Ophthalmoreaktion die bevorzugte Methode bei Erwachsenen, wofern man nur Fälle mit bestehenden oder abgelaufenen Augenkrankheiten von der konjunktivalen Anwendung des Tuberkulins ausschließt, da sie schwere Augenkomplikationen hervorrufen kann. Tatsächlich fällt die Konjunktivalreaktion bei Bestehen aktiver tuberkulöser Herde in einem sehr hohen Prozentsatz der Fälle positiv aus; es reagieren jedoch Individuen mit spezifischen Erkrankungen innerer Organe, wie solche mit tuberkulöser Peritonitis, oft nicht deutlich.

Der positive Ausfall der Tuberkulinreaktionen ist einfach als diagnostisches Hilfsmittel anzusehen, dem auch mit den angegebenen Reserven keine absolute Bedeutung zukommt, ebensowenig wie dem negativen Ausfall; denn bei Tuberkulösen im dritten Stadium tritt eine fortschreitende Verminderung der Reaktionsfähigkeit bis zu ihrem völligen Verschwinden im letzten Stadium der Krankheit ein, und auch unter anderen Umständen, z. B. nach gewissen Infektionskrankheiten (Masern) bleibt die Reaktion aus.

Aber trotz alledem bilden die verschiedenen Methoden, durch die der spezifische anaphylaktische Zustand des tuberkulösen Organismus gegen das Tuberkulin nachgewiesen werden kann, für die Praxis immerhin einen bemerkenswerten Fortschritt in der Lösung des wichtigen Problems der Diagnose einer tuberkulösen Infektion.

In der Veterinärmedizin.

Wie in der Humanmedizin, so wird auch in der Tierarzneikunde das Tuberkulin zu diagnostischen Zwecken verwendet, und zwar in Form der subkutanen Einspritzung, wie auch zur Ophthalmo- und Intradermoreaktion. Die hiezu nötigen Tuberkulinlösungen kommen schon gebrauchsfertig in den Handel.

Die subkutane Tuberkulinprobe wird zwischen 11 Uhr nachts und Mitternacht ausgeführt. 7 Stunden nach der Einspritzung beginnt man mit den Temperaturmessungen, die bis zur 15. Stunde stündlich, von da an bis zur 24. zweistündlich wiederholt werden.

Erwachsene Tiere mit Temperaturen über 39·5⁰ dürfen zur Probe nicht zugelassen werden.

Als typisch positiv ist die Fieberreaktion anzusehen, wenn die Temperatur bis über 40⁰ steigt und ein Unterschied von wenigstens 1·5⁰ zwischen den vor und den nach der Behandlung registrierten Zahlen zu verzeichnen ist. (Siehe Kurve, Fig. 25.)

Negativ ist der Ausfall der Probe, wenn die Körperwärme 39·5⁰ nicht übersteigt und der Unterschied in der vor und nach der Probe vorgenommenen Temperaturmessung nicht mehr als 0·5⁰ beträgt. In diesem Falle kann das betreffende Tier als gesund gelten, es sei denn, daß die Reaktionsfähigkeit infolge der Involution, wegen des vorgeschrittenen Stadiums der Krankheit, wegen einer vorausgegangenen Tuberkulin-

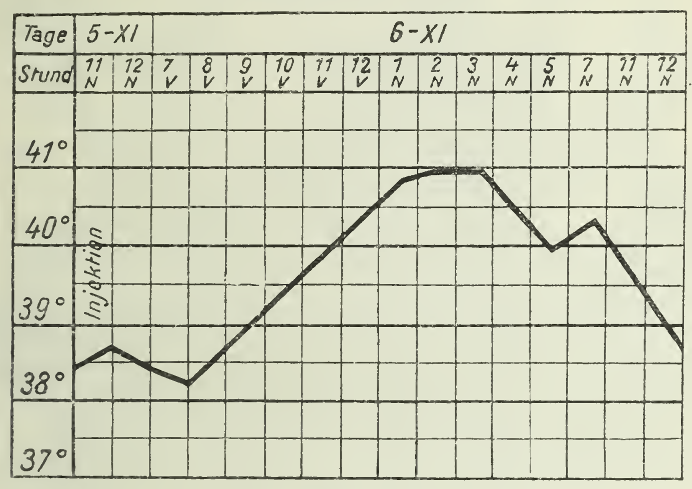


Fig. 25.
Typische Tuberkulinreaktion beim Rinde.

einspritzung oder wegen eines anderen Eingriffes (Fiebermittel etc.) vermindert sei.

Als verdächtig ist die Fieberreaktion anzusehen, wenn die Temperatur 39·5—40⁰ erreicht oder nach der Tuberkulineinspritzung wenigstens um 0·6—1·4⁰ höher ist als vorher.

Bei zweifelhaftem Resultat muß die Probe nach 48 Stunden mit einer doppelt so großen Tuberkulindosis wiederholt werden. Diese zweite, wie überhaupt jede weitere diagnostische Tuberkulinprobe muß am Morgen ausgeführt werden; die Temperaturmessungen sind von der 4. bis zur 16. Stunde in einstündigen Intervallen vorzunehmen. (Siehe Kurve, Fig. 26.)

Dieses klassische Verfahren wird wegen der etwas umständlichen Technik und der — wenn auch geringfügigen — Beeinflussung der Milchabsonderung allmählich von den lokalen

Tuberkulinproben, der Kutan- und der Ophthalmoreaktion verdrängt. Zur Ausführung der Ophthalmoreaktion verwendet man beim Rind konzentrierteres Tuberkulin als beim Menschen, und der positive Ausfall ist durch eine reichliche schleimig-eitrige Absonderung gekennzeichnet (siehe Tafel VIII). Die Intradermalreaktion besteht in der Einspritzung einer geringen Menge Tuberkulin in die Haut; wie beim Menschen die Kutanreaktion, ist die Probe beim Rinde höchst empfindlich und die Folgen, die im Auftreten eines Ödems und einer subkutanen Infiltration bestehen, deutlich und anschaulich. Die lokalen Tuberkulinproben

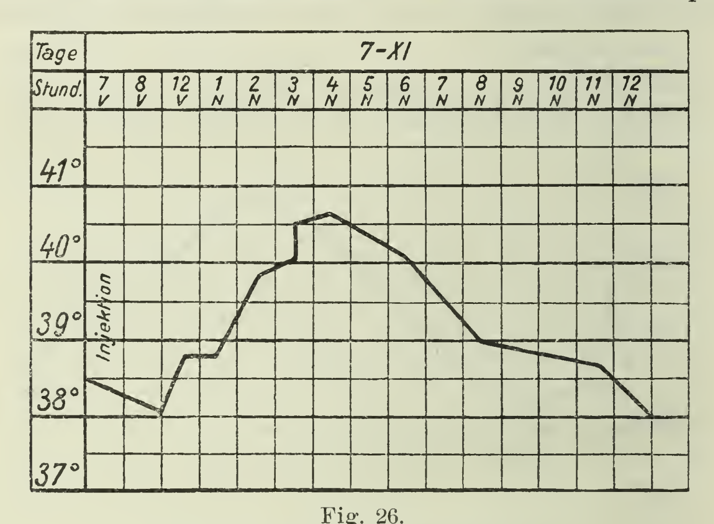


Fig. 26.
Beschleunigte Tuberkulinreaktion.

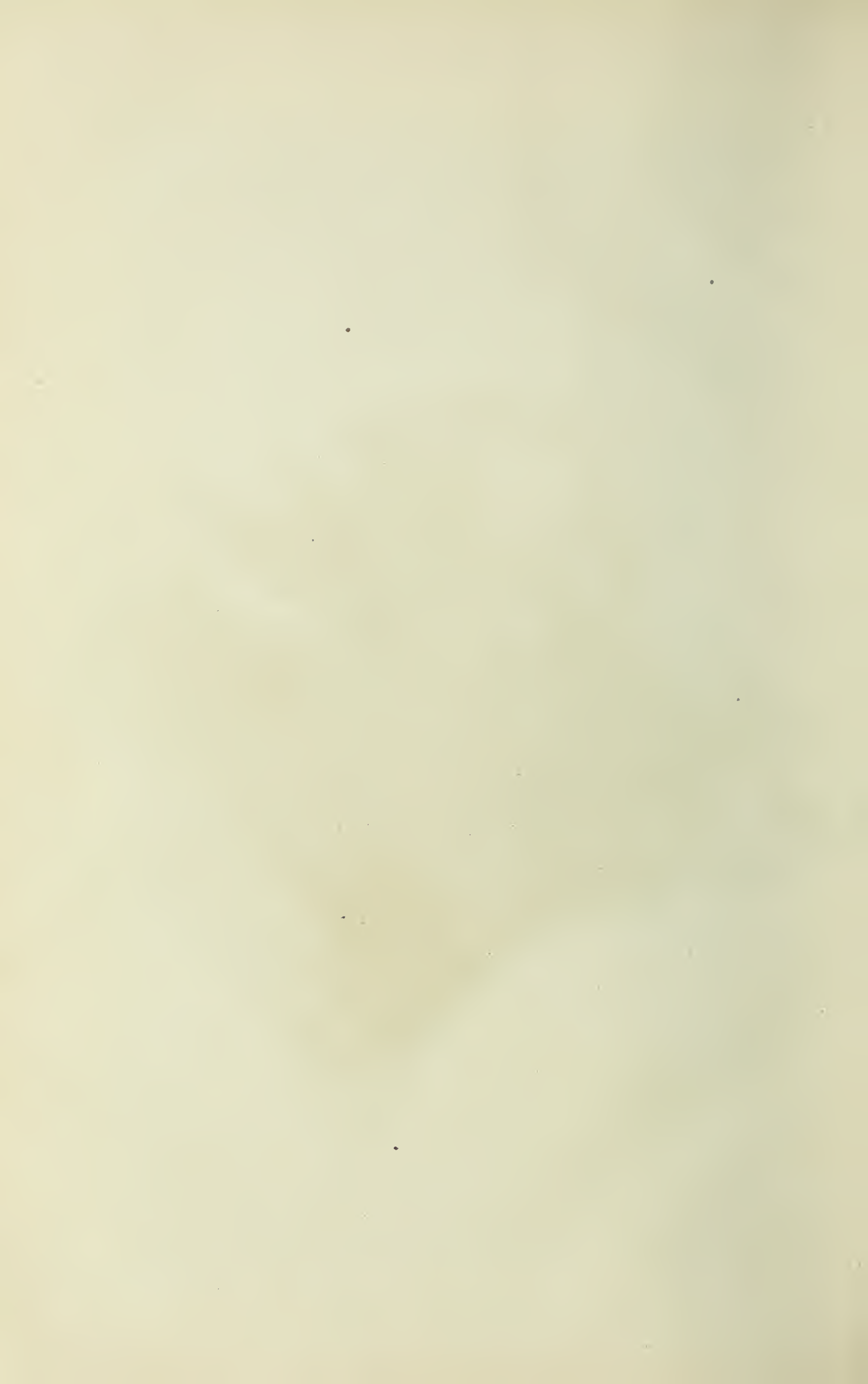
machen keine unangenehmen Nebenerscheinungen, sind durch bestehende Temperatursteigerungen nicht kontraindiziert, haben aber — namentlich die erstere — einen höheren Prozentsatz negativer Resultate, die jedoch durch Wiederholung der Probe (besonders der Ophthalmoreaktion) noch positiv werden können. Die lokalen Reaktionen empfehlen sich für die Anwendung in großem Stil, da der positive Ausfall augenfällig ist und die Zuverlässigkeit einer späteren subkutanen Probe durch sie nicht beeinträchtigt wird. Eine vorausgegangene subkutane Tuberkulinprobe kann zwar umgekehrt den Organismus für die — sonst zu bevorzugende — Intradermalreaktion unempfindlich machen, beeinflußt aber nicht den Ausfall der Ophthalmoreaktion, so daß letztere sogar mit Vorliebe zum Nachweis von

Ophthalmoreaktion beim tuberkulösen Rind.



Lith. Anst. Th. Bannwarth, Wien.

Verlag von J. Šafář in Wien u. Leipzig.



in betrügerischer Absicht ausgeführten Tuberkulinisierungen angewendet wird.

Die verschiedenen Methoden der Tuberkulinreaktion sind demnach geschaffen, sich gegenseitig zu ergänzen: so kann die subkutane Probe die konjunktivale reaktivieren, die Intradermalreaktion mit Vorteil die subkutane ergänzen und diese Kombinationen erhöhen den Wert der biologischen Reaktionen, da jede Methode die Fehlerquellen und Übelstände der anderen vermeidet.

Geflügeltuberkulose.

Ferner hat das Tuberkulin aus Bazillen der Geflügeltuberkulose bei der pseudotuberkulösen chronischen Enteritis der Rinder diagnostische Anwendung gefunden. Die von Johnes disease befallenen Rinder reagieren auf die Probe mit einer charakteristischen Temperaturerhöhung, die nur in einem sehr vorgeschrittenen Stadium der Krankheit ausbleibt.

Mit diesem Verfahren kann die Krankheit schon im Anfangsstadium erkannt und eine rechtzeitige Isolierung der befallenen Tiere durchgeführt werden. Der Unterschied zwischen Tuberkulin aus Bazillen der Geflügeltuberkulose und jenem aus Perlsuchtbazillen ist zwar nicht so ausgesprochen, daß das Auftreten einer positiven Reaktion bei tuberkulösen Rindern ausgeschlossen wäre, jedoch können tuberkulöse Rinder durch die gewöhnlichen Tuberkulinreaktionen erkannt und auf diese Art von den anderen unterschieden werden.

Es hat sich infolge der diagnostischen Bedeutsamkeit des Tuberkulins als notwendig herausgestellt, dieses regelmäßig zu kontrollieren, um seines Wertes und seiner Reinheit sicher zu sein, und zwar mittels der anaphylaktischen Reaktion selbst.

Biologische Kontrolle des Tuberkulins.

Es werden gleichaltrige Meerschweinchen von 500 *g* subkutan mit tuberkulösem Material infiziert, das aus tuberkulösen Herden eines Meerschweinchens, aber nicht aus Aufschwemmungen einer Kultur stammt, davon werden 2—3 *g* sorgfältig zerrieben, mit 150—200 *g* sterilen Wassers verdünnt und die homogene Emulsion filtriert. Aus dem Filtrat wird ein Präparat hergestellt und gefärbt und je nach seinem Bakteriengehalt (1 Bazillus pro Gesichtsfeld oder 1—2 Bazillen im ganzen Präparat) werden $^1/_4$ oder $^1/_2$ cm^3 injiziert.

Drei Wochen nach der Injektion stellt man die Empfindlichkeit der Meerschweinchen gegen das Tuberkulin fest, indem man einem (auf je 500 *g* Lebendgewicht) intraperitoneal die Dosis injiziert, die man bei Rindern zu diagnostischen Zwecken einspritzt und einem zweiten das anderthalbfache dieser Dosis (immer im Verhältnis zu 500 *g* Lebendgewicht).

Bleiben beide Meerschweinchen am Leben, so wartet man einige Tage mit der Wiederholung des Versuchs. Stirbt nun das Tier, das die größere Dosis bekommen hat, so wiederholt man täglich den Versuch mit zwei Meerschweinchen und der kleineren Dosis, bis beide Tiere innerhalb 24 Stunden eingehen. Damit ist der Höhepunkt der Überempfindlichkeitsreaktion festgestellt, den man nachprüft, indem man 6 Meerschweinchen (auf je 500 *g* Lebendgewicht) die bei ausgewachsenen Rindern zur Diagnose verwendete Dosis einspritzt; wenn von diesen Tieren wenigstens 4 innerhalb 24 Stunden eingehen, so ist das als Zeichen aufzufassen, daß die infizierten Meerschweinchen zur Auswertung von Tuberkulinproben geeignet sind. Man verwendet für jede Tuberkulinprobe 6 Meerschweinchen und außerdem einige Tiere zur Kontrolle (mit einem Tuberkulin, dessen Wert man genau kennt) und zwei normale Meerschweinchen. Jedem Tier spritzt man die diagnostische Tuberkulindosis auf je 500 *g* Lebendgewicht intraperitoneal ein.

Tötet das Testtuberkulin innerhalb 24 Stunden zwei Drittel der Kontrolltiere, während die normalen Meerschweinchen sich widerstandsfähig gegen die Injektion zeigen, so muß man von dem auszuwertenden Tuberkulin verlangen, daß es innerhalb 24 Stunden wenigstens die Hälfte der tuberkulösen Meerschweinchen tötet und die beiden normalen am Leben läßt. Die Meerschweinchen, die eingehen, müssen charakteristische tuberkulöse Veränderungen aufweisen.

Mallein-reaktion.

In ganz analoger Weise wie der tuberkulöse Organismus auf das Tuberkulin, reagiert das rotzkranke Tier auf Extrakte aus Rotzbazillen, so daß die Malleinreaktion wirklich ein klassisches Mittel zur Serodiagnose des Rotzes bildet. Eine typische fieberhafte Reaktion spricht, wenn sie außerdem von lokalen schmerzhaften Schwellungen an der Impfstelle des Malleins und von einer allgemeinen Beteiligung des Organismus begleitet ist, entschieden für das Bestehen eines Rotzprozesses bei einem verdächtigen Tiere und rechtfertigt dessen Tötung zur Verhinderung der Ausbreitung einer Infektion.

Als Injektionsstelle dient am besten eine Seitenfläche des Pferdehalses. Zur Malleinprobe dürfen nur solche Pferde zugelassen werden, die 2 Tage vorher keine Fiebertemperaturen aufwiesen.

Die Malleineinspritzung erfolgt gegen 11 Uhr abends und die Temperaturmessungen werden von 6 oder 7 Uhr morgens bis gegen 5 Uhr nachmittags jede Stunde oder alle anderthalb Stunden, später bis gegen 9 Uhr abends alle 2 Stunden vorgenommen; um 7 Uhr früh des darauffolgenden Tages beginnt man die Messungen neuerdings, und zwar in zweistündigen Intervallen bis zur Rückkehr zur Norm.

Bei Einhaltung dieser Vorsichtsmaßregeln und der in der Gebrauchsanweisung angegebenen technischen Winke wird das Mallein stets seine wertvollen diagnostischen Eigenschaften offenbaren.

Die hauptsächlichsten Merkmale der Malleinreaktion sind:

1. die allgemeine Organreaktion, die sich in Traurigkeit, Abgeschlagenheit, heftigeren, rascheren Herzschlägen, Schüttelfrost und fibrillären Muskelzuckungen äußert;

2. die lokale Organreaktion, die diagnostisch nicht minder bedeutungsvoll ist als die Fieberreaktion. An der Injektionsstelle erscheint eine schmerzhafte Schwellung, welche einen Durchmesser von ungefähr 10 *cm* aufweist, sich strichförmig längs der benachbarten Lymphbahnen ausbreitet und erst nach zirka 50 Stunden wieder verschwindet. Kleinere oder größere Ödeme an der Oberfläche und in der Tiefe haben, falls sie schmerzlos sind, keine Bedeutung oder sind höchstens verdächtig, wenn sie länger als 50 Stunden bestehen bleiben, während die lokale

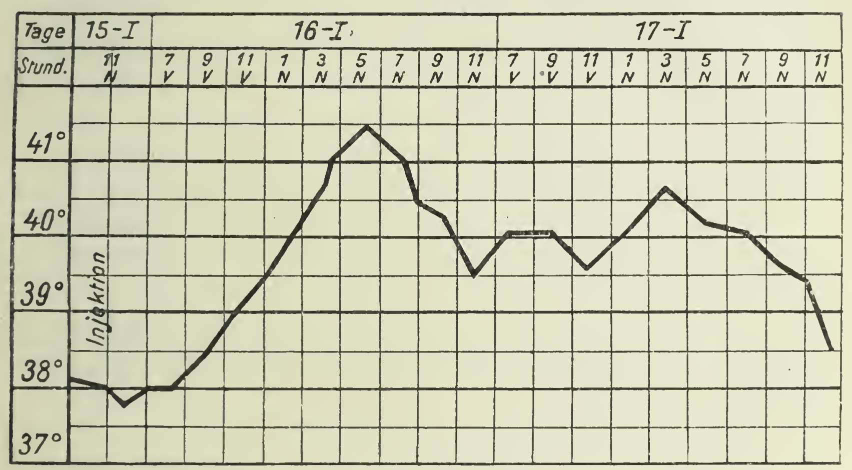


Fig. 27.
Malleinreaktion bei Rotz.

Organreaktion eine große diagnostische Bedeutung hat: die schmerzhafte, typische Schwellung spricht sicher für das Bestehen von Rotz;

3. die typische Fieberreaktion des Rotzes ist dadurch gekennzeichnet, daß die Temperatur gewöhnlich 7 Stunden nach der Malleineinspritzung zu steigen beginnt, in den folgenden Stunden 40° erreicht oder auch übersteigt, hierauf nach der 21. Stunde abnimmt, ohne aber die normalen Werte zu erreichen, um dann neuerdings am zweiten Tag bis zu 40° oder wenigstens 39·5° zuzunehmen und endlich nach einem Zeitraum von 48 Stunden zu der Norm zurückzukehren. (Siehe Kurve Fig. 27.)

Ist die beschriebene Fieberkurve von den zwei oben genannten Organreaktionen begleitet, kann das Bestehen einer Rotzinfektion für erwiesen gelten.

In gewissen Fällen, namentlich bei schlecht genährten, alten Pferden tritt die Fieberreaktion verspätet, oft erst 20 Stunden nach der Malleineinspritzung auf.

Neben der subkutanen Malleineinspritzung, die mit dem Erscheinen der typischen Lokal- und Allgemeinreaktion immer noch die klassische Methode der biologischen Rotzdiagnose darstellt, haben sich in letzter Zeit auch die lokalen Reaktionen — die Kutan- und die Ophthalmoreaktion — eingebürgert. Doch ist die Konjunktivalreaktion nur dann beweisend, wenn die reichliche Eitersekretion schon von weitem auffällt und so die Diagnose ermöglicht.

Lidreaktion.

Die von Lanfranchi angegebene Lidreaktion hingegen, die die italienische Regierung bei den Militärpferden obligatorisch eingeführt hat, fand eine verbreitete Anwendung. Diese lokale Malleinreaktion hätte den Vorteil der einfachen und raschen Methode für sich, da die langwierigen Temperaturmessungen vorher und nachher wegfallen; überdies ist ihre Anwendung bei fiebernden Pferden nicht kontraindiziert und die Injektion kann bequem am Morgen, statt wie beim klassischen Versuch in den vorgerückten Abendstunden, ausgeführt werden.

Ist das Tier zu unruhig, so wendet man die Nasenbremse an; dann wird die Bindehaut des Lides, wo man die Injektion machen will, wie gewöhnlich desinfiziert; mit der linken Hand hebt man die Haut in einer Falte ab, während man mit der rechten die Nadel der Spritze horizontal, 1 *cm* vom Lidrand entfernt gegen die Mitte des Lides zu einführt, dann die Spritze aufsetzt und 25 *cg* rohes Mallein, in 2 *g* 5‰iger Karbolsäure aufgelöst, einspritzt.

Folgende Normen dienen zur Deutung der Resultate:

a) positive Reaktion: lokales Ödem (Wärme, Spannung, große Empfindlichkeit), das schon nach 2 Stunden auftritt und sich steigert und ausbreitet, den Lidrand durch 12—24 Stunden befällt und auch 48 Stunden anhält; etwa nach 2—3 Stunden bildet sich im Konjunktivalsack Schleim und Eiter, der sich im inneren Augenwinkel ansammelt. Diese Sekretion wird stärker, es fließt auch nach 24, oft nach 30 Stunden und länger aus dem inneren Augenwinkel; das Tier ist abgeschlagen und matt.

b) negative Reaktion: leichte lokale Schwellung, die nach 10—12 Stunden abnimmt und nach 24—30 Stunden verschwunden ist, leichte Tränensekretion, zuweilen schwache Schleim- und Eiterbildung, keine Abgeschlagenheit.

c) zweifelhafte Reaktion: manchmal ist das Ödem ausgebreitet (das bei gesunden Pferden nie sehr empfindlich ist), Bildung von etwas Eiter, der aus dem inneren Augenwinkel rinnt, so daß die Deutung der Reaktionsphänomene zweifelhaft erscheint. Hier muß man den Versuch nach 3—4 Tagen am unteren Lid des anderen Auges wiederholen. Zuweilen kann man, wenn alle Reaktionserscheinungen verschwunden sind, die Injektion am selben Lid wiederholen, da die Versuche gezeigt haben, daß bei rotzkranken Pferden die lokalen Symptome sich bei der zweiten

Injektion verstärken, während sie bei gesunden sich im Gegenteil verringern.

Die Lokalreaktionen stören den Ausfall der subkutanen Probe keineswegs, sie summieren sich sogar in ihren Wirkungen und erhöhen die Empfindlichkeit des rotzkranken Organismus, so daß eine Kombination der verschiedenen Methoden wohl angezeigt sein dürfte. Die subkutane Malleinisierung ist zwar zuweilen imstande, eine bereits erloschene Lokalreaktion wieder anzufachen, in der Regel aber stumpft sie die Reaktionsfähigkeit des Organismus gegen Mallein für einige Zeit ab. Wichtig ist die Anwendung der intradermalen Probe zur Auswertung des Malleins, wozu bisher der Tierversuch nicht geeignet war: die umschriebenen Schwellungen der Intradermoreaktion sollen eine mathematisch genaue Auswertung des Malleins ermöglichen.

Die Malleinreaktion ist trotz alledem nicht immer imstande, jeden Zweifel an der Diagnose zu zerstreuen; bevor man sich zur Tötung eines verdächtigen Tieres entschließt, soll man nicht unterlassen, in dem Serum den Nachweis spezifischer Agglutinine, Präzipitine und komplementbindender Substanzen zu versuchen, um die biologische Diagnose des Rotzes zu vervollständigen.

Kontrolle des Malleins.

Beim Mallein kann die Kontrolle der Wirksamkeit nicht so wie beim Tuberkulin an den Laboratoriumstieren ausgeübt werden; anstatt wie Schnürer vorgeschlagen hat, Pferde zu verwenden, ist es vorteilhafter, den Wert des Präparates mittels des Präzipitationsversuches auszuprobieren oder noch besser, es mittels der Komplementbindung auszuwerten, wie dies im achten Kapitel genau beschrieben ist.

Abortin.

Mit einem nach Art des Tuberkulins aus den Kulturen des Bangschen Bazillus erhaltenen Präparate — dem Abortin — ist auch bei seuchenhaftem Verwerfen eine allergische, spezifische Fieberreaktion bei infizierten Kühen erzeugt worden. Ob diese biologische Reaktion in der Tat, wie Mac Fadyean angibt, geeignet ist, die Infektion in anscheinend noch gesunden Tieren zu entdecken und die zur Verhütung der Weiterverbreitung der Krankheit nötigen Vorbeugungsmaßregeln zu treffen, muß bis auf weiteres dahingestellt bleiben.

Überempfindlichkeitsreaktion bei Syphilis.

Ähnlich wie das Tuberkulin beim tuberkulösen Individuum schafft das Gift der Syphilis beim syphilitischen einen Zustand der Überempfindlichkeit; infolgedessen antwortet es auf die Einführung einer Kulturemulsion — die 30 Minuten lang mit einem

Zusatz von 0·50% Trikresol und der zur Klärung der Lösung nötigen Menge Wasser auf dem Wasserbad von 60° gehalten wird — der Spirochaete pallida (Luetin) mit einer deutlichen Reaktion, während das nicht syphilitische Individuum größere Dosen desselben Luetins ohne irgendeine Reaktion erträgt, abgesehen von einem kleinen Erythem (normale oder negative Reaktion) an der Injektionsstelle, das innerhalb 48 Stunden wieder verschwindet.

Bei Luetikern bildet sich 24—48 Stunden nach der Injektion eine Papel (positive Papelreaktion), umgeben von einer diffusen Schwellung, die 4—5 Tage lang an Intensität zunimmt und eine dunkle bläulichschwarze Färbung annimmt, um dann langsam zurückzugehen, oder aber sie verwandelt sich in eine Pustel (positive Pustelreaktion), die eine ziemlich trübe, seröse Flüssigkeit und später Eiter enthält. Die Pustel verwandelt sich in eine mehr oder weniger dicke Kruste, die nach einigen Tagen abfällt und eine Färbung oder eine echte Narbe hinterläßt. Dieser Reaktionstypus — die Pustel — ist bei der tertiären oder der späten hereditären Syphilis häufiger. Zuweilen, aber recht selten, tritt die Reaktion in torpider Form als knoten- oder pustelförmiges Gebilde — erst nach 2—3 Wochen — auf. Diese Form kann vielleicht mit den verschiedenen Luetinarten in Zusammenhang gebracht werden.

Noguchi verwendet zur Luetinreaktion die Intradermalinjektion, deren Technik von der Kutanreaktion etwas abweicht. Man wäscht und desinfiziert die Außenseite des rechten Vorderarms mit einer alkoholischen Sublimatlösung; dann zieht man in eine Spritze mit sehr feiner Nadel 0·07 *cm*³ Luetin für Erwachsene, 0·05 *cm*³ für Kinder auf, hebt an der Stelle der Wahl eine dünne Hautfalte ab, führt die Nadel fast parallel zur Hautoberfläche ein, wobei man das Flötenschnabelende gegen außen, d. h. gegen die Epidermis wendet; ist die Nadel in die Haut eingedrungen, so hebt man die Spitze ein wenig, erreicht die Haut von der Innenseite und läßt die Flüssigkeit einfließen, die eine kleine Ödemblase bildet und sich rasch aufsaugt. Gleichzeitig macht man einen Kontrollversuch am linken Vorderarm, wo man auf dieselbe Art eine gleiche Menge steriler Kulturflüssigkeit einspritzt.

Die mit der Intradermalinjektion erzielten Resultate sind beim Menschen nach zahlreichen statistischen Feststellungen folgende:

Bei der Primärsyphilis, wenn die Injektion zur Zeit der Geschwürsperiode ausgeführt wird, verläuft die Reaktion meistens negativ (33% positiv).

Bei der Sekundärsyphilis erhält man 47% positive Resultate.

Bei der Tertiärsyphilis erweist sich die Noguchische Reaktion am nützlichsten (in 70% der untersuchten Fälle positiver Ausfall der Probe), wie auch in Fällen von latenter Syphilis.

Auf jeden Fall wird die Intradermalreaktion mit Luetin die Befunde der Wassermannschen Serodiagnose vervollständigen und kontrollieren und ein wichtiges Hilfsmittel in den Fällen beistellen, wo man wegen mangelnder Technik und fehlenden Behelfen den Wassermann nicht ausführen kann.

Intrakutane Reaktion bei der Echinokokkose.

In allerletzter Zeit hat man die intrakutane Reaktion auch in der Diagnose der Echinokokkenkrankheit ausprobiert, indem man $\frac{1}{2}$ cm^3 der wasserklaren, filtrierten Zystenflüssigkeit (von einem Ochsen oder Schafe) am Arme injiziert hat. Nach wenigen Stunden bemerkt der Patient Jucken und nach 12 Stunden erscheint ein eigroßes, manchmal sogar handtellergroßes Erythem, das von ödematöser Infiltration und Fieber begleitet wird. Die Reaktion soll in 87·5% der Fälle positiv sein.

Beim Typhus.

Einen bescheidenen Wirkungskreis fanden die Überempfindlichkeitsreaktionen auch beim Typhus, zu diagnostischen Zwecken oder kürzlich auch zur Bewertung der sogenannten Gewebsimmunität bei gegen Typhus Geimpften und bei Individuen, die von einer Infektion mit dem Eberthschen Bazillus genesen sind. Als Antigen oder Reagens verwendete man anfangs eine Lösung von pulverisiertem Typhustoxin, später eine einfache Bakterienaufschwemmung oder noch besser den gewöhnlichen Schutzimpfstoff. Weder die Ophthalmo- noch die Kutanreaktion erwiesen sich beim Typhus als praktisch besonders bedeutsam zur Typhusdiagnose und konnten sich auch neben der Widalschen Probe nicht halten. Theoretisch verdient die Intradermalreaktion ein gewisses Interesse, um die Zellimmunität auszuprobieren, obwohl die Erfahrungen noch zu gering sind, um definitive Schlüsse zu ermöglichen.

Bei Diphtheritis.

Ferner hat Schick gezeigt, daß man bei der Einimpfung von konzentriertem Diphtherietoxin in die menschliche Haut eine spezifische Kutanreaktion erhält, die regelmäßig ausbleibt, wenn man entweder das Diphtheriegift mit Diphtherieheilserum mischt, oder 24—48 Stunden vorher eine Heilseruminjektion macht. Dieser spezifischen Reaktion bedient er sich nicht nur zur Abschätzung der individuellen Prädisposition für Diphtheritis,

sondern auch, um den Zusammenhang zwischen Serumkrankheit und Zerstörung des Antitoxins zu studieren und um eine klinisch-experimentelle Auswertung der zur Heilung der Diphtherie notwendigen Immunisierungseinheiten zu ermöglichen.

Nicht einmal die anaphylaktischen Reaktionen lassen jedoch immer präzise diagnostische Schlüsse zu. Die serodiagnostische Untersuchung darf sich eben niemals auf eine einzige Reaktion beschränken, sondern muß sich aller Möglichkeiten bedienen, indem sie auf die verschiedenen Proben der Koagulation, der Lyse, der veränderten Oberflächenspannung, des Nachweises von Schutzfermenten und der Anaphylaxie zurückgreift, wie sie gerade im speziellen Fall anwendbar sind. Denn die Diagnose wird um so begründeter erscheinen, je größer die Übereinstimmung der Ergebnisse der verschiedenen biologischen Untersuchungsmethoden ist. Die Beantwortung der schwebenden Frage wird also nur auf Grund einer übersichtlichen Zusammenfassung aller Untersuchungsresultate möglich sein. Die biologischen Reaktionen werden ihren Anteil daran haben, der ohne jedwede Übertreibung auf der Wagschale objektiver Forschung geltend gemacht werden soll. Die nüchterne, vorurteilslose, gewissenhafte Einschätzung der biologischen Reaktionen wird der jüngeren Richtung in der Serologie zustatten kommen, die sich ebenso vor den Fanatikern zu hüten hat, die ihre Bedeutung überschätzen, wie vor den Skeptikern, die sie noch immer nicht voll zu würdigen verstehen.

Passive Anaphylaxie.

Auch vom rein theoretischen Standpunkt aus ist die Anaphylaxie das interessanteste und aktuellste Kapitel der Immunitätsforschung. Ihre Bezeichnung als eine umgekehrte Immunität ist nicht wörtlich zu nehmen, weil der innere Vorgang sich nicht einfach entgegengesetzt dem Mechanismus der echten Immunität entwickelt, sondern charakteristische Eigentümlichkeiten zeigt, die tiefgehende Unterschiede zwischen den beiden Extremen in den Erscheinungsformen der Allergie andeuten.

So kann z. B. auch der anaphylaktische Zustand passiv übertragen werden, und zwar mittels des Serums von aktiv überempfindlich gemachten Organismen; trotzdem aber erzeugt der anaphylaktische Antikörper bei Einführung in die Venen nicht mit einem Schlag die Prädisposition gegen das Antigen, sondern er braucht eine gewisse Zeit, um den passiv anaphylak-

tisch gemachten Organismus überempfindlich zu machen; aus dieser Latenzperiode läßt sich folgern, daß zur Erzeugung der passiven Anaphylaxie nicht wie bei der passiven Immunität der einfache Übertritt des Antikörpers ins Blut und in die Säfte genügt, sondern daß sekundäre Prozesse der Bindung des Antikörpers an die empfindlichen Zellen notwendig sind, damit der anaphylaktische Shock zum Ausbruch kommen kann.

Alimentäre Anaphylaxie.

Für die Praxis ist es von Bedeutung, daß man den Zustand der Anaphylaxie auf dem Wege der Einverleibung durch den Magen leicht herbeiführen kann, während die Immunisierung per os noch ein ungelöstes Problem darstellt. Die alimentäre oder intestinale Anaphylaxie ist nicht bloß eine klinische Erfahrung, die auf der Beobachtung plötzlichen Auftretens von anaphylaktischen Erscheinungen und sogar von Todesfällen beim Menschen, besonders bei Kindern beruht, sondern ist eine Tatsache, die experimentell herbeizuführen ist, und zwar mit allen Kautelen, die Dörr verlangt, wenn ein Phänomen als anaphylaktisches anerkannt werden soll.

Die Erklärung für das Vorwiegen dieser Symptome bei Kindern besonders nach Genuß ihres gewöhnlichsten Nahrungsmittels, der Milch, aber auch nach Eiern und anderen Speisen liegt darin, daß ihr Magendarmtrakt eine höhere Durchlässigkeit zeigt; hingegen tritt auch bei ausgewachsenen Versuchstieren nach lang dauernder Milchernährung das typische Bild der Anaphylaxie mit letalem Ausgang auf, wenn man Milch intrakardial einführt, genau so als ob man die Tiere parenteral vorbereitet, d. h. überempfindlich gemacht hätte.

Serum gegen Hämorrhagien

Man hat es auch verstanden, die Eigentümlichkeiten, welche das Serum während des anaphylaktischen Shocks aufweist, zu verwerten: so hat z. B. die erhöhte Gerinnungsfähigkeit desselben den Anlaß zur Ausarbeitung eines antihämorrhagischen Serums gegeben. Dufour und Lo Hello haben, ausgehend von der längstbekannten Tatsache, daß die Gerinnungsfähigkeit des Blutes im allgemeinen im Verlaufe der anaphylaktischen Erscheinungen eine Erhöhung erfährt, versucht, diese Gerinnungsfähigkeit zu therapeutischen Zwecken zu steigern, wozu sie ein Anaphylaxie hervorrufendes Serum der Kaninchen verwendeten. Sie machten Kaninchen in regelmäßigen Abständen Injektionen von ganz kleinen Pferdeserumdosen (Diphtherieserum); je kleiner die Dosis, desto besser das Resultat. 21 Tage nach der ersten Injektion macht man ihnen einen Aderlaß und gewinnt aseptisch das Serum, dem man eine minimale Menge Karbolsäure zusetzt. Dieses Serum sensibilisiert Meerschweinchen sofort nach der Injektion und erzeugt bei ihnen eine deutliche Steigerung der Gerinnungs-

fähigkeit des Blutes. Bei subkutaner Einspritzung hat es beim Menschen dieselbe Wirkung und hat zur Stillung zahlreicher Blutungen beigetragen. Im allgemeinen genügen 10—20 cm^3 zur Erzielung des therapeutischen Zweckes beim Menschen.

Anaphylaktogene.

In der letzten Zeit tritt das Wesen der Anaphylaktogene immer deutlicher hervor; man kann nur dann von Anaphylaktogenen sprechen, wenn unzweifelhaft feststeht, daß sie nicht bloß eine spezifische Überempfindlichkeit und die Produktion von Antikörpern, die imstande sind, diese letztere von aktiv anaphylaktisch gemachten Tieren auf normale zu übertragen, zu erzeugen vermögen, sondern es muß auch die Überempfindlichkeit ganz augenfällig sein, die passive Übertragung muß nach einer Latenzperiode deutlich werden und die Symptome müssen bei jeder Tierart ganz charakteristisch sein. Wo man diese strengen Regeln in Anwendung bringt, scheiden aus dem Rahmen der Anaphylaktogene sehr bald die anorganischen oder nicht eiweißartigen Substanzen aus, wie der Alkohol, die Brompräparate, das Jodoform, aber auch eiweißartige wie die Toxine, das Wittesche Pepton, das Agar-Agar, denen man anaphylaktisch machende Eigenschaften zuschreiben wollte. Mit welcher Vorsicht man vorgehen muß, um in keinen Irrtum zu verfallen, zeigen Versuche mit experimentell erzeugter Anaphylaxie, wobei Elektrargol verwendet wurde; durch genaues Studium des Phänomens ergab sich, daß die Erscheinungen einer eiweißartigen Substanz zuzuschreiben waren, die dem Elektrargol zur Bindung zugesetzt worden war.

Theorien.

Es ist daher einzusehen, daß keine der Theorien über die Anaphylaxie sich bis jetzt durchsetzen konnte. Am ehesten wird noch die anerkannt, die die Erscheinungen der Anaphylaxie als Reaktionsprodukte zwischen eiweißartigen und entsprechenden Antikörpern auffaßt; weniger beachtet wird die Annahme von Vaughan und seiner Schule, die die Anaphylaxie einem spezifischen proteolytischen Ferment zuschreibt; hingegen findet die physikalische Theorie immer mehr Beachtung, die annimmt, daß Schwankungen der elektrischen Ladung im Spiele sind, Verminderung der Oberflächenspannung, Verwandlung von Sol in Gel und osmotische Prozesse infolge stärkerer Durchlässigkeit der Zellmembranen.

Jedenfalls ist der innere Mechanismus der Anaphylaxie schon genügend aufgeklärt, um das Verständnis der umgekehrten

Erscheinung zu ermöglichen, und die Antianaphylaxie nach Besredka als Sättigung des anaphylaktischen Antikörpers, der mittels des eingeführten Antigens an die sensiblen Zellen gebunden ist, ansehen zu lassen. So zeigt sich die Grundlage zu einer genauen Analyse der Gesetze, die das Eintreten der Anaphylaxie und der Antianaphylaxie regieren; es konnten zahlenmäßige Verhältnisse zwischen den Mengen festgestellt werden, die bei der ersten und bei der zweiten Injektion Anaphylaxie erzeugen und zwischen den die Anaphylaxie hemmenden, so daß daraus praktische Schlüsse für die Antianaphylaxie im Serum zu ziehen sind.

Anergie.

Das Studium der Allergie ist noch lange nicht erschöpft; das schwankende Gleichgewicht zwischen dem Zustand der Anaphylaxie, der Antianaphylaxie und der Immunität hat sicher eine große Bedeutung bei Infektionen, worauf kürzlich Galeotti hingewiesen hat; er betonte die Disposition für das Eindringen pathogener Keime, die die Anergie erzeugt, d. h. die fehlende allergische Abwehrtätigkeit des Organismus, der einer Krankheit ausgesetzt ist. Darum ist auch nicht mit Unrecht die Allergie und besonders die für sie prädisponierende Phase der Anaphylaxie noch heute das brennendste Problem der Immunitätslehre.

Nachtrag zu Kapitel V nächste Seite.

Fickersches Typhusdiagnostikum.

Das neue Fickersche Typhus-, bzw. Paratyphusdiagnostikum stellt die wirksamen Bestandteile der Bakterienleiber dar und bleibt monatelang gebrauchsfähig.



Fig. 28.

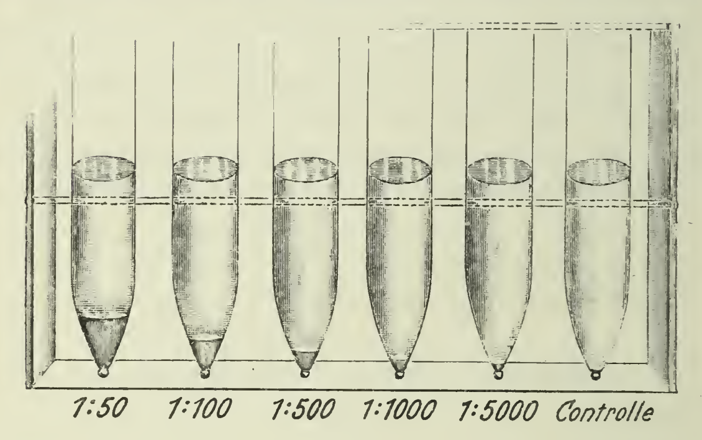


Fig. 29.

Nach Besorgung der nötigen Serummenge durch Blutentnahme, sei es mit dem Schröpfapparat, sei es durch Stich in die Fingerbeere oder mittels Venenpunktion in die Ellbogenbeuge, geht man an die Ausführung der Reaktion, indem man das zu prüfende Serum auf das Zehnfache mit steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Mittels graduierter Pipette überträgt man in je ein Spitzgläschen, beispielsweise 0·4—0·2 und 0·1 der obigen Serumverdünnung, das mit 0·6, bzw. 0·8 und 0·9 physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt wird. Ein weiteres Gläschen erhält 1 cm^3 Diagnostikum ohne Serumzusatz. Nach Aufsetzen von Korkstöpseln werden die Gläschen gut gemischt und bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen gelassen.

Nach 12—24 Stunden wird das Resultat abgelesen.

Anhang.

Auszug aus der amtlichen deutschen Anleitung für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion.

(Festgestellt in der Sitzung des Reichs-Gesundheitsrats vom 11. Juli 1919.)

1. Zur Ausführung der Wassermannschen Reaktion sind nur staatlich geprüfte Extrakte und als Ambozeptor nur staatlich geprüfte hammelblutlösende Kaninchensera zu verwenden. Andere Extrakte und Ambozeptoren dürfen nicht benützt werden.

2. Das Komplement muß von den Untersuchungsstellen selbst gewonnen und die Hammelblutaufschwemmung muß von den Untersuchungsstellen selbst hergestellt werden.

Das Komplement darf nur von Meerschweinchen, die noch nicht zu anderen Versuchen verwendet worden sind, stammen. Es soll frisch oder höchstens am vorhergegangenen Tage entnommen sein. Die Aufbewahrung des Meerschweinchenserums muß in letzterem Falle auf Eis oder im Eisschrank erfolgen. Es empfiehlt sich, das Komplement von mehreren Tieren zu mischen.

Die roten Hammelblutkörperchen müssen durch sorgfältiges dreimaliges Waschen mit der mindestens 5fachen Menge 0·85%iger Kochsalzlösung und nachfolgendes Ausschleudern von allen Resten anhaftenden Serums befreit werden.

Die als Bodensatz ausgeschleuderten Blutkörperchen sind mit steriler 0·85%iger Kochsalzlösung derart aufzuschwemmen, daß die Blutkörperchenaufschwemmung stets in gleicher Dichte benutzt wird und der Mischung von 1 cm^3 Bodensatz und 19 cm^3 0·85%iger Kochsalzlösung entspricht.

Bei der

Versuchsanordnung

sind folgende Vorschriften zu beachten:

3. Das menschliche Serum darf nur in inaktiviertem Zustand untersucht werden, d. h. nach ½stündiger Erhitzung im Wasserbade auf 55° bis 56° C.

Je ein Teil des inaktivierten Serums ist mit 4 Teilen steriler 0·85%iger Kochsalzlösung zu verdünnen.

4. Jedes menschliche Serum muß gleichzeitig mit mindestens 3 verschiedenartigen Extrakten, darunter möglichst einem aus syphilitischer Leber gewonnenen Extrakt untersucht werden. Es empfiehlt sich indessen, besonders auch bei Wiederholungen der Untersuchung und bei früher bereits sicher festgestellter Lues mit 5 Extrakten zu arbeiten.

Die Gebrauchsdosis der einzelnen Extrakte ist durch Vergleichsprüfung an einer größeren Reihe als „sicher positiv“ und „sicher negativ“ bekannter Menschensera ausprobiert. Auf den Fläschchen ist angegeben, mit wieviel physiologischer Kochsalzlösung 1 cm^3 des Extraktes verdünnt werden muß, damit die Gebrauchsdosis beim Arbeiten mit je 0·5 cm^3 der einzelnen Komponenten in 0·5 cm^3 der Verdünnung enthalten ist.

Die Extrakte müssen kurz vor Ansetzen des Versuchs durch Zugabe der entsprechenden Mengen steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt werden.

In welcher Art (unter Schütteln, langsam oder schnell usw.) die Verdünnung zu erfolgen hat, geht aus der den Fläschchen beigegebenen Anweisung hervor.

5. Die Wassermannsche Reaktion wird in der Weise ausgeführt, daß jede der 5 in Betracht kommenden Komponenten in einem Flüssigkeitsvolumen von 0·5 cm^3 enthalten ist. Das Gesamtvolumen beträgt demnach in jedem einzelnen Versuchsröhrchen 2·5 cm^3.

Aus Sparsamkeitsrücksichten darf die Flüssigkeitsmenge der einzelnen Komponenten auch auf 0·25 cm^3, das Gesamtvolumen auf 1·25 cm^3 herabgesetzt werden. In diesem Falle sind die folgenden Zahlenangaben sinngemäß auf die Hälfte zu vermindern.

Vor Ausführung der Wassermannschen Reaktion ist jeweils die Wirksamkeit des benutzten Komplements und des hämolytischen Ambozeptors in Vorversuchen zu bestimmen.

Das Komplement wird sowohl in den Vorversuchen wie auch im Hauptversuch in 10facher Verdünnung (1 Teil Meerschweinchenserum + 9 Teile steriler 0·85%iger Kochsalzlösung), bzw. in 20facher Verdünnung (1 Teil Meerschweinchenserum + 19 Teile steriler 0·85%iger Kochsalzlösung) verwendet.

Hämolytischer Vorversuch.

6. Von dem hämolytischen Ambozeptor (Hammelblutkörperchen lösendes Kaninchenserum) werden, um die im Hauptversuch anzuwendende „Gebrauchsdosis“ zu ermitteln, absteigende Mengen (bzw. verschiedene Verdünnungen) geprüft, um zunächst die kleinste völlig lösende Dosis festzustellen.

Zugleich wird unter Verwendung eines Extraktes die eigenhemmende (antikomplementäre) Wirkung der Extraktverdünnung auf das jeweils benutzte Komplement durch folgende Feststellung berücksichtigt. Es werden einerseits Mischungen von absteigenden Mengen von Ambozeptor und Hammelblutaufschwemmung (sensibilisierte rote Blutkörperchen), anderseits ein Gemisch von Komplement und Extraktverdünnung hergestellt. Nach 45 Minuten langem Verweilen dieser Gemische im Brutschrank werden den Ambozeptor und Hammelblutaufschwemmung enthaltenden Versuchsröhrchen gleiche Mengen des Gemisches von Komplement und Extraktverdünnung zugefügt, so daß die unter diesen Bedingungen völlig lösende Dosis des Ambozeptors ermittelt wird.

Der Vorversuch gestaltet sich daher bei einem Titer des hämolytischen Ambozeptors 1 : 2000 folgendermaßen:

A.

Bestimmung der völlig lösenden Dosis.

Röhrchen	Hämolytischer Ambozeptor	Kochsalzlösung	Komplement	Hammelblutkörperchen
1.	1·5 *cm*³ Verd. 1 : 3000 [= 0·5 *cm*³ 1 : 1000]	0	0·5 *cm*³ 1 : 10	0·5 *cm*³ 1 : 20
2.	1·0 „ „ „ [= 0·5 „ 1 : 1500]	0·5	„	„
3.	0·75 „ „ „ [= 0·5 „ 1 : 2000]	0·75	„	„
4.	0·5 „ „ „ [= 0·5 „ 1 : 3000]	1·0	„	„
5.	1·5 „ „ 1 : 12000 [= 0·5 „ 1 : 4000]	0	„	„
6.	1 „ „ „ [= 0·5 „ 1 : 6000]	0·5	„	„
7.	0·75 „ „ „ [= 0·5 „ 1 : 8000]	0·75	„	„
8.	0·5 „ „ „ [= 0·5 „ 1 : 12000]	1·0	„	„
9.	0	1·5	„	„

Die in eckigen Klammern beigefügten Verdünnungen stellen die Ambozeptorenverdünnungen, auf ein Volumen von 0·5 *cm*³ berechnet, dar, also auf diejenigen Bedingungen bezogen, wie sie im Hauptversuche praktisch zur Anwendung gelangen.

B.

Bestimmung der völlig lösenden Dosis nach vorherigem Zusammenwirken von Extrakt und Komplement unter Verwendung sensibilisierten Blutes.

Röhrchen	Hämolytischer Ambozeptor	Kochsalzlösung	Hammelblutkörperchen	
10.	0·5 *cm*³ 1 : 100 [1 : 100]	0	0·5 *cm*³ 1 : 20	Nach ³/₄stündigem Verweilen im Brutschrank wird je 1·5 *cm*³ einer gleichfalls zuvor ³/₄ Stunden im Brutschrank gehaltenen Mischung von gleichen Teilen Extraktverdünnung, physiologischer Kochsalzlösung und 10fach verdünntem Meerschweinchenserum zugefügt.
11.	0·25 „ 1 : 100 [1 : 200]	0·25	„	
12.	0·5 „ 1 : 300 [1 : 300]	0	„	
13.	0·3 „ 1 : 300 [1 : 500]	0·2	„	
14.	0·2 „ 1 : 300 [1 : 750]	0·3	„	
15.	0·15 „ 1 : 300 [1 : 1000]	0·35	„	
16.	0·1 „ 1 : 300 [1 : 1500]	0·4	„	

Die fertig beschickten Röhrchen werden 1 Stunde im Brutschrank oder ½ Stunde im Wasserbade bei 37⁰ gehalten. Danach wird im Vorversuch A. die kleinste lösende Dosis („Titerdosis") des Ambozeptors bestimmt, durch Feststellung desjenigen Röhrchens von 1—9, in dem gerade noch völlige Lösung der Blutkörperchen eingetreten ist.

Die Blutkörperchen dürfen bei alleinigem Komplementzusatze keine Lösung zeigen. Demgemäß muß in dem Röhrchen 9 die oberhalb der Blutkörperchen stehende Flüssigkeit farblos bleiben.

Aus dem Vorversuche B. (Röhrchen 10—16) ergibt sich die völlig lösende Ambozeptordosis bei vorheriger Einwirkung des Extrakts auf das Komplement. Sie ist durch die antikomplementäre Extraktwirkung, bzw. durch Abschwächung des verdünnten Komplements größer als bei

der einfachen Bestimmung des Ambozeptortiters. Es muß daher einerseits mindestens die im Vorversuche B. völlig lösende Ambozeptormenge, anderseits mindestens das Vierfache der in Reihe A. ermittelten Titerdosis für den Hauptversuch angewandt werden.

Enthält z. B. im Vorversuch A. Röhrchen 3 die kleinste völlig lösende Dosis, im Vorversuche B. Röhrchen 13, so ergibt sich als Gebrauchsdosis 0·5 cm^3 der 500fachen Ambozeptorverdünnung.

Enthält aber z. B. im Vorversuch A. Röhrchen 3 die völlig lösende Dosis, im Vorversuche B. aber Röhrchen 11, so ergibt sich als Gebrauchsdosis für den Hauptversuch 0·5 cm^3 einer Ambozeptorverdünnung von 1:200.

Enthält endlich z. B. im Vorversuch A. Röhrchen 3 die völlig lösende Dosis, im Vorversuch B. aber Röhrchen 15, so ergibt sich als Gebrauchsdosis 0·5 cm^3 der Ambozeptorverdünnung 1:500.

Zugleich sind die beiden Vorversuche A. und B. in gleicher Weise anzusetzen, nur mit dem Unterschiede, daß das Komplement anstatt in 10facher in 20facher Verdünnung zur Anwendung gelangt. Dabei ist in dem Versuchsteil B. derjenige Extrakt zu verwenden, der auch im Hauptversuche bei 20facher Komplementverdünnung benutzt wird.

Die Gebrauchsdosis ergibt sich auch in diesem Falle aus den oben erörterten Regeln.[1])

Röhrchen	Komplement	Kochsalzlösung	Ambozeptor-Gebrauchsdosis	Hammelblut 1:20
1.	1 cm^3 Verd.. 1:20 = 0·5 cm^3 1:10	0·5	für Kompl. Verd. 1:10 0·5	0·5 cm^3
2.	0·5 „ „ „ = 0·5 „ 1:20	1	„ „	„
3.	0·25 „ „ „ = 0·5 „ 1:40	1·25	„ „	„
4.	1 „ „ 1:160 = 0·5 „ 1:80	0·5	„ „	„
5.	0·5 „ „ „ = 0·5 „ 1:160	1	„ „	„
6.	1 „ „ 1:20 = 0·5 „ 1:10	0·5	für Kompl. Verd. 1:20 0·5	„
7.	0·5 „ „ „ = 0·5 „ 1:20	1	„ „	„
8.	0·25 „ „ „ = 0·5 „ 1:40	1·25	„ „	„
9.	1 „ „ 1:160 = 0·5 „ 1:80	0·5	„ „	„
10.	0·5 „ „ „ = 0·5 „ 1:160	1	„ „	„

7. Um eine Gewähr dafür zu haben, daß im Hauptversuch einerseits eine hinreichende Komplementmenge vorhanden ist, andererseits ein Komplementüberschuß vermieden wird, empfiehlt es sich, unter Verwendung der nach dem Verfahren in Ziffer 6 bestimmten Gebrauchsdosen des Ambozeptors den Grad der Komplementwirkung quantitativ auszuwerten.

Ein derartiger Kontrollversuch gestaltet sich folgendermaßen:

Die fertig beschickten Röhrchen werden 1 Stunde im Brutschrank oder 1/2 Stunde im Wasserbade bei 37° gehalten. Danach werden diejenigen

---

[1]) Anmerkung. Wenn ausnahmsweise im Vorversuche B. unter Verwendung 20facher Komplementverdünnung auch bei der größten Ambozeptormenge in Röhrchen 10 keine völlige Lösung eintritt, kann trotzdem der Hauptversuch mit der größten Ambozeptormenge des Vorversuchs B. ausgeführt werden. Tritt in derartigen Ausnahmefällen in den Kontrollröhrchen nicht vollständige Hämolyse ein, so ist bei sich ergebenden Zweifeln die Untersuchung mit demselben Serum zu wiederholen.

Röhrchen der beiden Versuchsreihen bestimmt, in denen gerade noch völlige Lösung der Blutkörperchen eingetreten ist. Diese beiden Röhrchen geben den Komplementtiter an und zeigen, ob in den Komplementverdünnungen 1 : 10, bzw. 1 : 20 hinreichend und nicht zu viel Komplement enthalten ist. Der Komplementgehalt ist sicher hinreichend, wenn die Komplementverdünnungen 1:10, bzw. 1:20 das Doppelte des Komplementtiters enthalten, d. h. wenn in Röhrchen 2, bzw. in Röhrchen 8 gerade noch völlige Lösung der Blutkörperchen eingetreten ist. Ist die hämolytische Wirkung geringer, so liegt ein schwacher Komplementgehalt vor, ist sie stärker, so ist ein Komplementüberschuß vorhanden. Bei der Anordnung mit 20fach verdünntem Meerschweinchenserum kommt ein Komplementüberschuß nur in Ausnahmefällen in Betracht.

Dieser Versuch ist nur als Sicherung für die Beurteilung einer Versuchsreihe an einem jeweiligen Tage zwecks Berücksichtigung des schwankenden Komplementtiters aufzufassen. Wenn also z. B. aus dem Versuche hervorgeht, daß das Meerschweinchenserum sehr komplementarm war und im Hauptversuch eine auffallende Menge von partiellen Hemmungen vorhanden ist, so mahnt diese Kontrolle zur Vorsicht in der Beurteilung positiver Fälle, bzw. zur Neuanstellung des Versuchs mit anderem Komplement.

Hauptversuch mit Kontrollen.

8. Außer der eigentlichen Prüfung der eingesandten menschlichen Untersuchungsflüssigkeiten muß durch Vergleichsuntersuchungen festgestellt werden:

a) daß das verwendete hämolytische System durch alleinigen Zusatz der Extrakte in seiner Wirksamkeit nicht beeinflußt wird,	„Extraktkontrollen“ (Röhrchen 1, 2 u. 3)
b) daß ein aus früheren Versuchen als „sicher negativ“ bekanntes Menschenserum bei richtiger Versuchsanordnung keine Hemmung der Hämolyse bewirkt,	„Negative Standardkontrollen“ (Röhrchen 4, 5 u. 6)
c) daß aber durch ein aus früheren Versuchen als „sicher positiv“ bekanntes Menschenserum Hemmung der Hämolyse hervorgerufen wird,	„Positive Standardkontrollen“ (Röhrchen 7, 8 u. 9)
d) daß ohne Zusatz der Extrakte die zu untersuchenden Flüssigkeiten in der Menge von 1 cm^3 der Verdünnung 1:5 das hämolytische System in seiner Wirksamkeit nicht beeinträchtigen.	„Serumkontrollen“ (Röhrchen 19—28)

9. Um eine gute Übersicht zu haben, empfiehlt es sich, in den Reagensglasstellen die einzelnen, mit den entsprechenden Nummern versehenen Röhrchen so aufzustellen, daß alle das gleiche Serum enthaltenden Röhrchen hintereinander, alle den gleichen Extrakt enthaltenden Röhrchen nebeneinander stehen.

Die Ausführung der Hauptversuche gestaltet sich demnach bei der Untersuchung von drei Krankensera unter Verwendung von drei Extrakten folgendermaßen:

Röhrchen	Menschenserum (1:5)	Extrakte (A B C)	Komplement (Verdünnung 1:10)	Komplement (Verdünnung 1:20)	Kochsalzlösung	Ambozeptor[1] (Gebrauchsdosis)	Hammelblut	
1.	—	A 0·5 *cm*³	0·5 *cm*³	—	0·5 *cm*³	0·5 *cm*³	0·5 *cm*³	Extraktkontrollen
2.	—	B 0·5 „	„	—	„	„	„	
3.	—	C 0·5 „	—	0·5 *cm*³	„	„	„	
4.	Negat. Vergleichsserum 0·5	A 0·5 *cm*³	0·5 *cm*³	—	—	„	„	Negative Standardkontrollen
5.	„ „ „	B 0·5 „	„	—	—	„	„	
6.	„ „ „	C 0·5 „	—	0·5 *cm*³	—	„	„	
7.	Posit. Vergleichsserum 0·5	A 0·5 *cm*³	0·5 *cm*³	—	—	„	„	Positive Standardkontrollen
8.	„ „ „	B 0·5 „	„	—	—	„	„	
9.	„ „ „	C 0·5 „	—	0·5 *cm*³	—	„	„	
10.	Krankenserum I 0·5	A 0·5 *cm*³	0·5 *cm*³	—	0·5 *cm*³	„	„	
11.	„ „ „	B 0·5 „	„	—	—	„	„	
12.	„ „ „	C 0·5 „	—	0·5 *cm*³	—	„	„	
13.	Krankenserum II 0·5	A 0·5 „	0·5 *cm*³	—	—	„	„	
14.	„ „ „	B 0·5 „	„	—	—	„	„	
15.	„ „ „	C 0·5 „	—	0·5 *cm*³	—	„	„	
16.	Krankenserum III 0·5	A 0·5 „	0·5 *cm*³	—	—	„	„	
17.	„ „ „	B 0·5 „	„	—	—	„	„	
18.	„ „ „	C 0·5 „	—	0·5 *cm*³	—	„	„	
19.	Negat. Vergleichsserum 1·0	—	0·5 *cm*³	—	—	„	„	Serumkontrollen
20.	„ „ „	—	—	0·5 *cm*³	—	„	„	
21.	Posit. Vergleichsserum 1·0	—	0·5 *cm*³	—	—	„	„	
22.	„ „ „	—	—	0·5 *cm*³	—	„	„	
23.	Krankenserum I 1·0	—	0·5 *cm*³	—	—	„	„	
24.	„ „ „	—	—	0·5 *cm*³	—	„	„	
25.	Krankenserum II 1·0	—	0·5 *cm*³	—	—	„	„	
26.	„ „ „	—	—	0·5 *cm*³	—	„	„	
27.	Krankenserum III 1·0	—	0·5 *cm*³	—	—	„	„	
28.	„ „ „	—	—	0·5 *cm*³	—	„	„	

Auch bei Benutzung von mehr als drei Extrakten wird immer nur ein Extrakt mit der Komplementverdünnung 1:20 angesetzt.

10. Es werden zunächst das menschliche Serum, die Extrakte und das Komplement (in den Röhrchen 1, 2 und 3 an Stelle des Serums die entsprechende Menge Kochsalzlösung) miteinander gemischt und alle Röhrchen 1 Stunde bei 37° C im Brutschrank gehalten. Hierauf erfolgt der Zusatz des sensibilisierten Hammelbluts. Zur Sensibilisierung sind

[1]) Anmerkung. In denjenigen Röhrchen, die 20fach verdünntes Komplement enthalten (also in Röhrchen 3, 6, 9, 12, 15, 18, 20, 22, 24, 26 und 28) ist die Gebrauchsdosis des hämolytischen Ambozeptors eine andere, als in den übrigen Röhrchen, in denen die Komplementverdünnung 1:10 benutzt wird. Die Gebrauchsdosis ergibt sich aus den in Ziffer 6 beschriebenen Vorversuchen.

Ambozeptorverdünnung und Hammelblutkörperchenaufschwemmung gut zu mischen und $^1/_2$ Stunde bei 37° im Brutschrank zu halten. Die Röhrchen kommen nach kräftigem Durchschütteln ihres nunmehr überall 2·5 cm^3 betragenden Gesamtinhalts wiederum in den Brutschrank oder in das auf 37° C eingestellte Wasserbad.

Durch zeitweise Betrachtung der Röhrchen wird der Verlauf der Reaktion beobachtet und der Zeitpunkt festgestellt, an dem in den Kontrollröhrchen 1—6 und 19—28 die Blutkörperchen überall völlig gelöst sind. Alsdann wird das Ergebnis festgestellt.[1])

11. Bei der Untersuchung von Lumbalflüssigkeiten werden absteigende Mengen der nicht inaktivierten Lumbalflüssigkeit (0·5—0·4—0·3—0·2—0·1 cm^3) mit dem Extrakt gemischt. Es genügt hierbei die Verwendung einer 10fachen Komplementverdünnung und die Benützung von 2 Extrakten, wobei für den zweiten Extrakt die Lumbalflüssigkeit nur in der Dosis von 0·5 benützt wird.

Die Untersuchung einer Lumbalflüssigkeit gestaltet sich demnach folgendermaßen:

Röhrchen	Lumbalflüssigkeit (unverdünnt)	Extrakte (A, B) Gebrauchsdosis	Komplement (Verdünnung 1:10)	Kochsalzlösung	Hämolytischer Ambozeptor (Gebrauchsdosis)	Hammelblut 1:20
1.	0·5 cm^3	A 0·5 cm^3	0·5 cm^3	—	0·5 cm^3	0·5 cm^3
2.	0·4 „	„	„	0·1	„	„
3.	0·3 „	„	„	0·2	„	„
4.	0·2 „	„	„	0·3	„	„
5.	0·1 „	„	„	0·4	„	„
6.	—	„	„	0·5	„	„
7.	0·5 cm^3	B 0·5 cm^3	„	—	„	„
8.	—	„	„	0·5	„	„
9.	1·0 cm^3	—	„	—	„	„
10.	0·6 „	—	„	0·4	„	„
11.	0·4 „	—	„	0·6	„	„
12.	0·2 „	—	„	0·8	„	„

[1]) Anmerkung. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Reaktion eine biologische ist und als solche trotz Einhaltung aller Kautelen eine gewisse Breite der Beurteilung verlangt, sei auf folgendes hingewiesen:

In den Versuchsreihen, die eine Komplementverdünnung 1:20 enthalten, tritt die Hämolyse in der Regel langsamer ein. Bei der Ablesung und Beurteilung müssen daher die Reihen mit der Komplementverdünnung 1:10 und 1:20 gesondert behandelt werden.

Wenn eine Serumkontrolle mit der Komplementverdünnung 1:10 zu einer Zeit nicht gelöst ist, zu der die anderen Serumkontrollen bereits gelöst sind, so ist das betreffende Serum als zu stark eigenhemmend nicht zu beurteilen. Die Beurteilung der übrigen in dem gleichen Versuch angesetzten Sera wird dadurch nicht beeinträchtigt.

Die Eigenhemmung des Serums ist zuweilen bei der Komplementverdünnung 1:20 ausgesprochener als bei der Komplementverdünnung 1:10. Die Ergebnisse bei Verwendung 20fach verdünnten Komplements (Extrakt C) sind dann mit entsprechender Vorsicht zu verwerten und müssen unter Umständen (bei unzureichender Lösung in den Kontrollen) bei der Beurteilung ausgeschieden werden. (Siehe Ziffer 13.)

Steht von der Lumbalflüssigkeit zu wenig Material zur Verfügung, so genügt unter Umständen, falls nicht eine Herabsetzung der Flüssigkeitsmengen der einzelnen Komponenten auf die Hälfte vorgezogen wird, (vgl. Ziffer 5, Abs. 2) das Arbeiten mit einem Extrakt. In diesem Falle scheiden also die Röhrchen 7 und 8 aus.

Im übrigen gilt für die Untersuchung von Lumbalflüssigkeiten das gleiche, was unter Ziffer 10 für die Serumuntersuchung gesagt ist.

12. Der Ausfall der Reaktion in den einzelnen Röhrchen ist in den Befundniederschriften überall gleichmäßig in folgender Weise zu verzeichnen:

++++ bedeutet: Blutkörperchen ungelöst, darüber stehende Flüssigkeit farblos.

+++ bedeutet: Blutkörperchen fast ungelöst, darüberstehende Flüssigkeit schwach rosa gefärbt.

++ bedeutet: zu etwa $1/2$ gelöst: sogenannte „Große Kuppe".

$\pm$ bedeutet: zu $3/4$ oder mehr gelöst: sogenannte „Kleine Kuppe".

— bedeutet: völlig gelöst: klare, lackfarbenrote Flüssigkeit.

Beurteilung der Befunde.

13. Die Reaktion darf nur dann als positiv bezeichnet werden, wenn die Kontrollen vollständig gelöst sind, d. h. wenn diejenigen Röhrchen, welche die doppelte Menge der Untersuchungsflüssigkeit (ohne Extrakt) und die einfache Extraktmenge (ohne Serum) enthalten, völlige Auflösung der Blutkörperchen aufweisen. Ist in den Serumkontrollen nicht völlige Hämolyse eingetreten, so kommen folgende Möglichkeiten in Betracht:

a) In den Hauptversuchsröhrchen (Extrakt + Untersuchungsflüssigkeit enthaltend) ist die Lösung der roten Blutkörperchen vollständig oder mindestens ebenso stark, wie in den Kontrollen eingetreten: das Ergebnis ist dann als negativ zu bezeichnen.

b) In den Hauptversuchsröhrchen ist vollständige Hemmung der Hämolyse oder stärkere Hemmung als in den Kontrollen eingetreten: das Ergebnis ist dann offen zu lassen. In diesen verhältnismäßig seltenen Fällen kann durch Wiederholung der Versuche mit absteigenden Serummengen unter Umständen noch ein eindeutiges positives Ergebnis erhalten werden.

Im übrigen gelten für die Beurteilung der Untersuchung folgende Grundsätze:

Das Ergebnis ist als „positiv", „verdächtig" oder „negativ" zu bezeichnen. Bei dem biologischen Charakter der Methode soll der Erfahrung und dem Ermessen des Untersuchers ein gewisser Spielraum gelassen werden. Insbesondere wird es sich für die Entscheidung nicht selten empfehlen, mit der gleichen Probe am nächsten Tage die Untersuchung mit absteigenden Serummengen zu wiederholen.

Bei dem Ergebnis „verdächtig" empfiehlt es sich, die Einsendung einer neuen Blutprobe nach etwa 14 Tagen zu veranlassen.

Inhaltsverzeichnis.

Verzeichnis der Tafeln und Figuren.

Verzeichnis der zitierten Autoren.

Sachregister.

B.

C.

D.

E.

F.

G.

Seite

H.

I.

K.

L.

M.

T.

U.

V.

W.

Z.

Druck von M. Salzer in Wien.



